



Attorney Docket No. 018995-743 Patent *ITW*

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Patent Application of

Yoshihiro Murano et al.

Application No.: 10/804,157

Filing Date: March 19, 2004

Title: FEEDS AND FERTILIZERS CONTAINING PENTACYCLIC TRITERPENES

Group Art Unit: 1614

Examiner: Unassigned

Confirmation No.: 7420

**SUBMISSION OF CERTIFIED COPY OF PRIORITY DOCUMENT**

Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450  
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

The benefit of the filing date of the following priority foreign application(s) in the following foreign country is hereby requested, and the right of priority provided in 35 U.S.C. § 119 is hereby claimed.

Country: Japan

Patent Application No(s): 2001-304708

Filed: September 28, 2001

In support of this claim, enclosed is a certified copy(ies) of said foreign application(s). Said prior foreign application(s) is referred to in the oath or declaration and/or the Application Data Sheet. Acknowledgment of receipt of the certified copy(ies) is requested.

Respectfully submitted,

BURNS, DOANE, SWECKER & MATHIS, L.L.P.

P.O. Box 1404  
Alexandria, Virginia 22313-1404  
(703) 836-6620

By 

Platon N. Mandros

Registration No. 22,124

Date: August 18, 2004

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されて  
いる事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed  
with this Office.

出願年月日 2001年 9月28日  
Date of Application:

出願番号 特願2001-304708  
Application Number:  
[ST. 10/C]: [JP2001-304708]

願人 日清オイリオ株式会社  
Applicant(s):

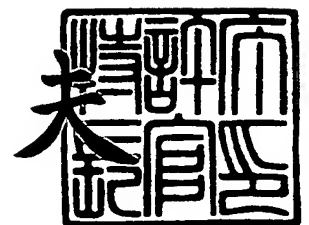
CERTIFIED COPY OF  
PRIORITY DOCUMENT

BEST AVAILABLE CO

2004年 3月16日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願

【整理番号】 1477

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 A23L 3/00

【発明者】

    【住所又は居所】 神奈川県横須賀市神明町 1 番地 日清製油株式会社 研究所内

    【氏名】 村野 賢博

【発明者】

    【住所又は居所】 神奈川県横須賀市神明町 1 番地 日清製油株式会社 研究所内

    【氏名】 篠原 剛

【発明者】

    【住所又は居所】 神奈川県横須賀市神明町 1 番地 日清製油株式会社 研究所内

    【氏名】 久野 憲康

【特許出願人】

    【識別番号】 000227009

    【氏名又は名称】 日清製油株式会社

    【代表者】 秋谷 淨恵

    【電話番号】 0468(37)2461

【手数料の表示】

    【予納台帳番号】 002749

    【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

    【物件名】 明細書 1

    【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 動植物用メラニン生成抑制剤および黒変・褐変防止組成物およびそれらの用途

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上を有効成分とする動植物用メラニン生成抑制剤。

【請求項 2】 五環性トリテルペン類がオレアナン系トリテルペン類、ウルサン系トリテルペン類、ルパン系トリテルペン類からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上であることを特徴とする請求項 1 に記載の動植物用メラニン生成抑制剤。

【請求項 3】 オレアナン系トリテルペン類がマスリン酸および／またはエリトロジオールである請求項 2 に記載の動植物用メラニン生成抑制剤。

【請求項 4】 ウルサン系トリテルペン類がウルソール酸および／またはウバオールである請求項 2 に記載の動植物用メラニン生成抑制剤。

【請求項 5】 ルパン系トリテルペン類がベツリン酸および／またはベツリンである請求項 2 に記載の動植物用メラニン生成抑制剤。

【請求項 6】 五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群よりなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上を含有する動植物用メラニン生成抑制剤原料。

【請求項 7】 五環性トリテルペン類がオレアナン系トリテルペン類、ウルサン系トリテルペン類、ルパン系トリテルペン類からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上であることを特徴とする請求項 6 に記載の動植物用メラニン生成抑制剤原料。

【請求項 8】 オレアナン系トリテルペン類がマスリン酸および／またはエリトロジオールである請求項 7 に記載の動植物用メラニン生成抑制剤原料。

【請求項 9】 ウルサン系トリテルペン類がウルソール酸および／またはウバオールである請求項 7 に記載の動植物用メラニン生成抑制剤原料。

【請求項 10】 ルパン系トリテルペン類がベツリン酸および／またはベツリン



である請求項 7 に記載の動植物用メラニン生成抑制剤原料。

【請求項 11】 五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上を動植物用メラニン生成抑制成分として含有することを特徴とする飼料。

【請求項 12】 五環性トリテルペン類がオレアナン系トリテルペン類、ウルサン系トリテルペン類、ルパン系トリテルペン類からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上を動植物用メラニン生成抑制成分として含有することを特徴とする請求項 11 記載の飼料。

【請求項 13】 オレアナン系トリテルペン類がマスリン酸および／またはエリトロジオールである請求項 12 に記載の飼料。

【請求項 14】 ウルサン系トリテルペン類がウルソール酸および／またはウバオールである請求項 12 に記載の飼料。

【請求項 15】 ルパン系トリテルペン類がベツリン酸および／またはベツリンである請求項 12 に記載の飼料。

【請求項 16】 五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上を動植物用メラニン生成抑制成分として含有することを特徴とする肥料。

【請求項 17】 五環性トリテルペン類がオレアナン系トリテルペン類、ウルサン系トリテルペン類、ルパン系トリテルペン類からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上を動植物用メラニン生成抑制成分として含有することを特徴とする請求項 16 記載の肥料。

【請求項 18】 オレアナン系トリテルペン類がマスリン酸および／またはエリトロジオールである請求項 17 に記載の肥料。

【請求項 19】 ウルサン系トリテルペン類がウルソール酸および／またはウバオールである請求項 17 に記載の肥料。

【請求項 20】 ルパン系トリテルペン類がベツリン酸および／またはベツリンである請求項 17 に記載の肥料。

【請求項 21】 五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上を動植物用メ

ラニン生成抑制剤として使用する方法。

【請求項 22】 オレアナン系トリテルペン類、ウルサン系トリテルペン類、ルパン系トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上を動植物用メラニン生成抑制剤として使用する方法。

【請求項 23】 オレアナン系トリテルペン類がマスリン酸および／またはエリトロジオールである請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】 ウルサン系トリテルペン類がウルソール酸および／またはウバオールである請求項 22 に記載の方法。

【請求項 25】 ルパン系トリテルペン類がベツリン酸および／またはベツリンである請求項 22 に記載の方法。

【請求項 26】 五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上を有効成分とする黒変・褐変防止組成物。

【請求項 27】 次の成分 (A) と (B) を含有することを特徴とする黒変・褐変防止組成物。

(A) 五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上

(B) 酸化防止剤、有機酸および同塩類、リン酸および同塩類からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上

【請求項 28】 五環性トリテルペン類がオレアナン系トリテルペン類、ウルサン系トリテルペン類、ルパン系トリテルペン類からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上であることを特徴とする請求項 26 および請求項 27 に記載の黒変・褐変防止組成物。

【請求項 29】 オレアナン系トリテルペン類がマスリン酸および／またはエリトロジオールである請求項 28 に記載の黒変・褐変防止組成物。

【請求項 30】 ウルサン系トリテルペン類がウルソール酸および／またはウバオールである請求項 28 に記載の黒変・褐変防止組成物。

【請求項 31】 ルパン系トリテルペン類がベツリン酸および／またはベツリン

である請求項 28 に記載の黒変・褐変防止組成物。

【請求項 32】 請求項 26～31 に記載の黒変・褐変防止組成物を含有することを特徴とする飼料。

【請求項 33】 請求項 26～31 に記載の黒変・褐変防止組成物を含有することを特徴とする肥料。

【請求項 34】 オリーブ植物を含有することを特徴とする動植物用メラニン生成抑制剤。

【請求項 35】 オリーブ植物を含有することを特徴とする動植物用メラニン生成抑制剤原料。

【請求項 36】 オリーブ植物を含有することを特徴とする黒変・褐変防止組成物。

【請求項 37】 オリーブ植物をメラニン生成抑制成分および／または黒変・褐変防止成分として含有することを特徴とする飼料。

【請求項 38】 オリーブ植物をメラニン生成抑制成分および／または黒変・褐変防止成分として含有することを特徴とする肥料。

【請求項 39】 オリーブ抽出物を含有することを特徴とする動植物用メラニン生成抑制剤。

【請求項 40】 オリーブ抽出物を含有することを特徴とする動植物用メラニン生成抑制剤原料。

【請求項 41】 オリーブ抽出物を含有することを特徴とする黒変・褐変防止組成物。

【請求項 42】 オリーブ抽出物をメラニン生成抑制成分および／または黒変・褐変防止成分として含有することを特徴とする飼料。

【請求項 43】 オリーブ抽出物をメラニン生成抑制成分および／または黒変・褐変防止成分として含有することを特徴とする肥料。

【請求項 44】 五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上をメラニン生成抑制成分および／または黒変・褐変防止成分として使用した動植物を原料として含有することを特徴とする飲食物。

【請求項 45】 五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上をメラニン生成抑制成分および／または黒変・褐変防止成分として使用した動植物を原料として含有することを特徴とする飼料。

【請求項 46】 五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上をメラニン生成抑制成分および／または黒変・褐変防止成分として使用した動植物を原料として含有することを特徴とする肥料。

#### 【発明の詳細な説明】

##### 【0001】

##### 【発明の属する技術分野】

本発明は、動植物体および／またはその一部分および／またはその一部が原料となる食品等の変色化防止や鮮度保持に有用な、動植物用メラニン生成抑制剤および黒変・褐変防止組成物に関する。

##### 【0002】

##### 【従来の技術】

動植物の生命維持には様々な化学反応が起きており、その結果としてさまざまな色素化合物が生成することが知られている。特に黒～褐色を呈するメラニンは、あらゆる動植物において生成される化合物であることが知られている。このようなメラニンは、例えば、肉・魚・野菜類等の生鮮食品の黒変、褐変現象や、愛玩動物や観賞用魚類等の黒変等によるくすみや色落ち現象の一因であるなど、様々な問題の原因物質であることが分かっている。

##### 【0003】

魚介類、水産加工品、畜産加工品、野菜および果実等の褪色および褐変は、消費者の目による嗜好性に反し、鮮度そのものとは無関係に商品価値を低下させる一因となっている。例えば、エビやカニ等の甲殻類は、保存中に次第に体色が黒変する。これは、甲殻類の体内にあるチロシンが共存している酸化酵素（チロシナーゼ）の酸化作用によって、黒色のメラニン色素が生成するためである。従来

このような黒変に対しては、ビタミンC類や亜硫酸塩やフィチン酸が用いられてきた。しかしながら、亜硫酸塩を用いることは、食品衛生法上の使用基準として、SO<sub>2</sub>の残存規制が厳しく規定されているため、これを留意して使用しなくてはならず、また、フィチン酸単体はPHが低いため、野菜などの低PH食品の変色防止や酸味低減には有効であるが、中性食品である水産加工物では十分な効果が得られていない。さらに、米麹菌の酵素生産物から得られたコウジ酸（チロシナーゼインヒビター）に関しては、発ガン性があることが学会で発表され、これにより亜硫酸塩の使用を余儀無くされているのが現状である。

#### 【0004】

また、例えば、マダイ、トラフグ、ヒラメなどの養殖魚は、天然魚に比べ、肉質や外見の品質が劣るとされ、商品価値が低い。例えば、天然のマダイは、太陽光のほとんど届かない海底付近に棲息し、日焼けすることがないため、また、新鮮なエビなどの甲殻類を食べているため、体表はきれいなピンク色であるのに対して、養殖では海面近くで太陽光が直接当たるため、また、色揚げ用のオキアミ等に鮮度の落ちたものを使用するため、日焼け、あるいは鮮度の落ちた甲殻類によりメラニンが増加して黒くなる。このような養殖魚におけるメラニンの沈着は、体表だけにとどまらず、筋肉中にも現れる。例えば、マダイを刺身にしたとき、養殖マダイでは、身の中に黒い筋がはっきりと認められるが、天然マダイの刺身には認められない。これらは、生簀に遮光幕をかけることで、改善されることが知られている（松井ら、日本水産学会誌，58，1459，1999）。しかしながら、遮光幕だけでは筋肉中のメラニン沈着はある程度までしか除去できず、黒い筋が目立つのが現状である。筋肉中に黒い筋があるために、養殖魚の商品価値が下がるのは自明である。

#### 【0005】

また、例えば、ポリフェノール類を含む植物組織中には、通常これを酸化する酵素が含まれている。このような酵素として、例えば、チロシナーゼ、ラッカーゼ等があるが、組織中のポリフェノール類はこれらの酵素により酸化され、さらにこのポリフェノール類の酸化物が酸化的に重合することによりメラニンが生成する。新鮮な植物体を傷つけると褐変を生ずるのはこれが原因であり、例えば、

リンゴやバナナの皮をむいたり、すりおろしたりしてしばらくすると、含まれているポリフェノール類とその酸化酵素が空気に触れて反応し、結果的にメラニンを経製して変色することは良く知られている。このような褐変を防ぐ方法としては、一般に、食塩水やレモン汁を利用する方法が古くから行われてきたが、味や風味を損なうため、商品価値を高めるための方法とはいえない。

#### 【0006】

##### 【発明が解決しようとする課題】

本発明は、動植物における黒変や褐変を抑制するための非常に優れた動植物用メラニン生成抑制剤および黒変・褐変防止組成物を提供することを課題とする。

#### 【0007】

##### 【発明が解決するための手段】

本発明者らは、前記課題を達成する為に鋭意検討した結果、五環性トリテルペン類、それらの生理的に許容される塩および／またはそれらの誘導体が優れたメラニン生成抑制効果を有することを見出し、更にこれらと、酸化防止剤、有機酸および同塩類、リン酸および同塩類とを組み合わせることによりより強力な黒変・褐変防止作用が得られることを発見し、本発明を完成させるに至った。

すなわち、本発明は、五環性トリテルペン類、それらの生理的に許容される塩および／またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上を有効成分とする動植物用メラニン生成抑制剤に関し、好ましくは、五環性トリテルペン類がオレアナン系トリテルペン類、ウルサン系トリテルペン類、ルパン系トリテルペン類、それらの生理的に許容される塩および／またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上を有効成分とする動植物用メラニン生成抑制剤に関し、さらに好ましくは、オレアナン系トリテルペン類として、マシリン酸、エリトロジオール、それらの生理的に許容される塩および／またはそれらの誘導体、ウルサン系トリテルペン類として、ウルソール酸、ウバオール、それらの生理的に許容される塩および／またはそれらの誘導体、ルパン系トリテルペン類として、ベツリン酸、ベツリン、および／またはそれらの生理的に許容される塩からなる群より選ばれる1種または2種以上を有効成分とする動植物用メラニン生成抑制剤に関する。本発明の動植物用メラニン生成抑制剤は、そのメラ

ニン生成抑制効果により、肉、魚介、野菜類、果物類等の食品、観葉植物、園芸用植物、穀物類、種子類等の植物類等の変色化防止や鮮度保持や、愛玩動物や観賞用魚類等の黒変等によるくすみや色落ち、に非常に有効であり、かつ、天然からも得ることができるためその使用において非常に安心感がある。

さらに本発明は、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上を含有する動植物用メラニン生成抑制剤原料に関する。本発明の動植物用メラニン生成抑制剤原料は、天然から得られるものおよび人工的に合成されたものの何れの形態でも使用することができる。これらは、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤、黒変・褐変防止組成物の製造を目的として配合することができる。

さらに、本発明は、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上を含有する黒変・褐変防止組成物に関し、好ましくは、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上と、酸化防止剤、有機酸および同塩類、リン酸および同塩類からなる群より選ばれる1種または2種以上を含有する、黒変・褐変防止組成物に関する。

また、本発明は、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上を動植物用メラニン生成抑制成分として含有する飼料および肥料に関する。

#### 【0008】

##### 【発明の実施の形態】

以下に、本発明について詳細に説明する。

本発明は、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上を有効成分とする動植物用メラニン生成抑制剤に関する。すなわち本発明は、含有する該五環性トリテルペン類等のメラニン生成抑制効果を特徴とする動植物用メラニン生成抑制剤であり、容易、かつ、継続的な使用が可能のため、好適なメラニン生成抑制効果が期待できる。ここで、五環性トリテルペン類とは、イソプレン単位6個から

成るトリテルペン類のうち、五環性の化合物であり、自然界においては様々な植物体に多く存在する物質群である。これらは、天然には植物体から抽出して得ることができ、また、その中のいくつかは人工的に合成され、既に試薬等として販売されているものもあり、いずれも好適に使用することができ、特に天然から得られるものは、飲食物等への適用に対して非常に安心感がある。

これらを有効成分として含有するとは、そのメラニン生成抑制効果を発揮する程度に含有するということであるが、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤におけるその含量は、含有する五環性トリテルペン類の種類、使用形態、使用目的、使用量、使用頻度、メラニン生成の度合い等によって適宜調整すれば良いため、一概には規定できず、本発明は以下に限定されるものではないが、例えば、0.00001質量%以上、好ましくは0.00001~99.99質量%、より好ましくは0.0001~99.99質量%、さらに好ましくは0.0005~99.99質量%、さらに好ましくは0.001~99.99質量%、さらに好ましくは0.005~99.99質量%、さらに好ましくは0.01~99.99質量%、さらに好ましくは0.05~99.99質量%、さらに好ましくは0.1~99.99質量%、さらに好ましくは0.5~99.99質量%、さらに好ましくは1~99.99質量%である。またメラニン生成抑制効果を有するものとしては、前記五環性トリテルペン類のうち、オレアナン系トリテルペン類、ウルサン系トリテルペン類、ルパン系トリテルペン類が好ましく、本発明はこれらからなる群より選ばれる1種または2種以上を含有する動植物用メラニン生成抑制剤に関する。さらに、前記オレアナン系トリテルペン類についてはマスリン酸および／またはエリトロジオールが好ましく、特にマスリン酸である場合が好ましい。ウルサン系トリテルペン類については、ウルソール酸および／またはウバオールである場合が好ましい。ルパン系トリテルペン類については、ベツリン酸および／またはベツリンである場合が好ましい。

これらのメラニン生成抑制効果は、培養色素細胞による試験法で、その効果を評価することができる。この評価方法によれば、従来からメラニン生成抑制効果を有するものとして知られているビタミンCリン酸マグネシウム塩と比較しても、数十倍~数百倍のメラニン生成抑制効果を有することがわかる。また、継続的



な使用による効果としては、例えば、実験動物等に経口摂取等させた場合、そのメラニン生成抑制効果を十分に発現することがわかる。

また、本発明は、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上を有効成分とする動植物用メラニン生成抑制剤原料に関し、前記五環性トリテルペン類のうち、オレアナン系トリテルペン類、ウルサン系トリテルペン類、ルパン系トリテルペン類が好ましい。さらに、前記オレアナン系トリテルペン類についてはマスリン酸および／またはエリトロジオールが好ましく、特にマスリン酸である場合が好ましい。ウルサン系トリテルペン類については、ウルソール酸および／またはウバオールである場合が好ましい。ルパン系トリテルペン類については、ベツリン酸および／またはベツリンである場合が好ましい。原料として使用する場合は、高濃度であることが好ましい。特に限定されないが、好ましくは 0.1 質量%以上、より好ましくは 0.1～99.99 質量%、さらに好ましくは 1～99.99 質量%、さらに好ましくは 10～99.99 質量%、さらに好ましくは 30～99.99 質量%、さらに好ましくは 50～99.99 質量%、さらに好ましくは 70～99.99 質量%、さらに好ましくは 90～99.99 質量%含有することができる。

また、本発明は、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上を動植物用メラニン生成抑制剤として使用する方法に関し、前記五環性トリテルペン類のうち、オレアナン系トリテルペン類、ウルサン系トリテルペン類、ルパン系トリテルペン類が好ましい。さらに、前記オレアナン系トリテルペン類についてはマスリン酸および／またはエリトロジオールが好ましく、特にマスリン酸である場合が好ましい。ウルサン系トリテルペン類については、ウルソール酸および／またはウバオールである場合が好ましい。ルパン系トリテルペン類については、ベツリン酸および／またはベツリンである場合が好ましい。

特に、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤は、そのメラニン生成抑制効果を目的として、各種飼料の形態で 사용할ことができる。すなわち、本発明は、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導

体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上を動植物用メラニン生成抑制成分として含有する飼料に関し、前記五環性トリテルペン類のうち、オレアナノ系トリテルペン類、ウルサン系トリテルペン類、ルパン系トリテルペン類が好ましい。さらに、前記オレアナノ系トリテルペン類についてはマスリン酸および／またはエリトロジオールが好ましく、特にマスリン酸である場合が好ましい。ウルサン系トリテルペン類については、ウルソール酸および／またはウバオールである場合が好ましい。ルパン系トリテルペン類については、ベツリン酸および／またはベツリンである場合が好ましい。本発明の飼料における該動植物用メラニン生成抑制剤の含量は、含有する五環性トリテルペン類の種類、使用形態、使用目的、使用量、使用頻度、対象の種、性別、体重、メラニン生成の度合い等によって適宜調整すれば良いため、一概には規定できず、本発明は以下に限定されるものではないが、例えば、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上をそのみで使用した場合として、対象の質量に対して、直接投与では 0.00001～50 質量%、好ましくは 0.0001～30 質量%、より好ましくは 0.001～20 質量%、さらに好ましくは 0.01～10 質量%、特に好ましくは 0.1～5 質量%であれば良く、また浸漬などの間接投与では 0.001～30 質量%、好ましくは 0.01～20 質量%、より好ましくは 0.1～10 質量%の溶液として使用すれば良い。

特に、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤は、そのメラニン生成抑制効果を目的として、各種肥料の形態で使用する事ができる。すなわち、本発明は、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上を動植物用メラニン生成抑制成分として含有する肥料に関し、前記五環性トリテルペン類のうち、オレアナノ系トリテルペン類、ウルサン系トリテルペン類、ルパン系トリテルペン類が好ましい。さらに、前記オレアナノ系トリテルペン類についてはマスリン酸および／またはエリトロジオールが好ましく、特にマスリン酸である場合が好ましい。ウルサン系トリテルペン類については、ウルソール酸および／またはウバオールである場合が好ましい。ルパン系トリテルペン類については、ベツリン酸および／また

はベツリンである場合が好ましい。本発明の肥料における該動植物用メラニン生成抑制剤の含量は、含有する五環性トリテルペン類の種類、使用形態、使用目的、使用量、使用頻度、対象の種、重量、メラニン生成の度合い等によって適宜調整すれば良いため、一概には規定できず、本発明は以下に限定されるものではないが、例えば、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上をそのみで使用した場合として、土壌混合や土壌灌注の場合、使用する土壌の質量に対して、0.0001～30 質量%、好ましくは 0.001～20 質量%、より好ましくは 0.01～15 質量%、さらに好ましくは 0.1～10 質量%、特に好ましくは 0.1～5 質量%であれば良く、培養液の場合、液の質量に対して、0.001～20 質量%、好ましくは 0.01～10 質量%、より好ましくは 0.1～5 質量%の溶液として使用すれば良い。

また、本発明は、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上を含有する黒変・褐変防止組成物に関し、好ましくは、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上と、酸化防止剤、有機酸および同塩類、リン酸および同塩類からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上とを含有することを特徴とする黒変・褐変防止組成物に関する。すなわち、前述したように、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体が有するメラニン生成抑制効果と、酸化防止防止剤、有機酸および同塩類、リン酸および同塩類等との相乗効果により、非常に好適な黒変・褐変防止組成物を得ることができる。ここで、本発明の黒変・褐変防止組成物における五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上の含量は、含有する五環性トリテルペン類の種類、使用形態、使用目的、使用量、使用頻度、メラニン生成の度合い等によって適宜調整すれば良いため、一概には規定できず、本発明は以下に限定されるものではないが、例えば、0.000001 質量%以上、好ましくは 0.00001～99.99 質量%、より好ましくは 0.0001～99.99 質量%、さらに好ましくは 0.0005～99.

99質量%、さらに好ましくは0.001~99.99質量%、さらに好ましくは0.005~99.99質量%、さらに好ましくは0.01~99.99質量%、さらに好ましくは0.05~99.99質量%、さらに好ましくは0.1~99.99質量%、さらに好ましくは0.5~99.99質量%、さらに好ましくは1~99.99質量%である。同様に、本発明の黒変・褐変防止組成物における酸化防止剤、有機酸および同塩類、リン酸および同塩類からなる群より選ばれる1種または2種以上の含量は、含有する酸化防止剤等の種類、使用形態、使用目的、使用量、使用頻度、メラニン生成の度合い等によって適宜調整すれば良いため、一概には規定できず、本発明は以下に限定されるものではないが、例えば、0.0001~95質量%、好ましくは0.001~90質量%、より好ましくは0.01~80質量%、さらに好ましくは0.05~70質量%、さらに好ましくは0.1~60質量%、さらに好ましくは0.5~50質量%質量%である。また、該五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上と、酸化防止剤、有機酸および同塩類、リン酸および同塩類からなる群より選ばれる1種または2種以上との含有比率は、使用する酸化防止剤、有機酸および同塩類、リン酸および同塩類の種類、目的とする相乗効果、使用形態、使用目的、使用量、使用頻度、メラニン生成の度合い等によって適宜調整すれば良いため、一概には規定できず、本発明は以下に限定されるものではないが、例えば、含有される五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上の質量を1とした場合に、酸化防止剤、有機酸および同塩類、リン酸および同塩類からなる群より選ばれる1種または2種以上の質量比が、0.001~1000、好ましくは0.005~500、より好ましくは、0.01~100、さらに好ましくは0.05~50、特に好ましくは0.1~20であれば良い。

ここで、本発明の黒変・褐変防止組成物は、その黒変・褐変防止効果を目的として、各種飼料の形態で使用する事ができる。すなわち、本発明は、該黒変・褐変防止組成物を含有する飼料に関する。本発明の飼料における該黒変・褐変防止組成物の含量は、含有する五環性トリテルペン類や酸化防止剤等の種類、使用

形態、使用目的、使用量、使用頻度、対象の種、性別、体重、メラニン生成の度合い等によって適宜調整すれば良いため、一概には規定できず、本発明は以下に限定されるものではないが、例えば、対象の質量に対して、経口投与では0.0001～50質量%、好ましくは0.0001～30質量%、より好ましくは0.001～20質量%、さらに好ましくは0.01～10質量%、特に好ましくは0.1～5質量%であれば良く、また浸漬などの間接投与では0.001～30質量%、好ましくは0.01～20質量%、より好ましくは0.1～10質量%の溶液等として使用すれば良い。

ここで、本発明の黒変・褐変防止組成物は、その黒変・褐変防止効果を目的として、各種肥料の形態で使用する事ができる。すなわち、本発明は、該黒変・褐変防止組成物を含有する肥料に関する。本発明の肥料における該黒変・褐変防止組成物の含量は、含有する五環性トリテルペン類や酸化防止剤等の種類、使用形態、使用目的、使用量、使用頻度、対象の種、重量、メラニン生成の度合い等によって適宜調整すれば良いため、一概には規定できず、本発明は以下に限定されるものではないが、例えば、土壌混合や土壌灌注の場合、使用する土壌の質量に対して、0.0001～30質量%、好ましくは0.001～20質量%、より好ましくは0.01～15質量%、さらに好ましくは0.1～10質量%、特に好ましくは0.1～5質量%であれば良く、培養液の場合、液の質量に対して、0.001～20質量%、好ましくは0.01～10質量%、より好ましくは0.1～5質量%の溶液として使用すれば良い。

#### 【0009】

本発明の動植物用メラニン生成抑制剤は、動植物体および／またはその一部分および／またはその一部が原料となる食品等におけるメラニン色素の生成を抑制、防止を目的として使用される。一般に、メラニンは、動植物の生命活動の結果として生じ、黒～褐色を呈し、肉・魚・野菜類等の生鮮食品の黒変、褐変現象の一因であることが知られている。したがって、メラニンの生成を抑えることができれば、肉・魚・野菜類等の生鮮食品等や愛玩動物や観賞用動植物の商品価値を高めることが可能である。本発明の動植物用メラニン生成抑制剤は、上記のように、肉・魚・野菜類等の生鮮食品等や愛玩動物や観賞用動植物の商品価値を高

めることに大きく寄与するものである。

#### 【0010】

本発明は、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上を有効成分として含有する動植物用メラニン生成抑制剤に関するが、ここで五環性トリテルペンとは、一般に、トリテルペン類の1種であり、イソプレン単位6個から成る五環性の化合物で、炭素数は30個を基本とするが、生合成過程で転移、酸化、脱離あるいはアルキル化され炭素数が前後するものも含まれる。本発明の動植物用メラニン生成抑制剤における五環性トリテルペン類とは、上記五環性トリテルペン類、それらの生理的に許容される塩および／またはそれらの水酸基やカルボキシル基が置換された誘導体をも含み、また、これらの由来は特に制限されず、天然から得られるもの、人工的に合成されたもの、市販品等何れも使用することができるが、本発明が飲食への応用を考慮に入れると、天然物を用いることが好ましい。

#### 【0011】

五環性トリテルペン類は、一般に、その骨格により分類されている。本発明における五環性トリテルペン類としては、例えば、オレアナン系トリテルペン類、ウルサン系トリテルペン類、ルパン系トリテルペン類、ホパン系トリテルペン類、セラタン系トリテルペン類、フリーデラン系トリテルペン類、タラキセラン系トリテルペン類、タラキサスタン系トリテルペン類、マルチフロラン系トリテルペン類、ジャーマニカン系トリテルペン類等が挙げられる。

#### 【0012】

ここで、生理的に許容される塩とは、特に五環性トリテルペン酸のカルボキシル基から誘導される塩であり（部分構造： $-COOX$ ；Xは任意の陽イオン性物質を示す。）、本発明においては、通常飲食物または医薬組成物で用いられている塩であれば特に限定はされず、例えば、ナトリウム、カリウム、リチウム等のアルカリ金属塩、カルシウム、マグネシウム、バリウム、亜鉛等のアルカリ土類金属塩、アンモニア、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、エチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミン、プロピルアミン、ブチルアミン

、テトラブチルアミン、ペンチルアミン、ヘキシルアミン等のアルキルアミン塩、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、プロパノールアミン、ジプロパノールアミン、イソプロパノールアミン、ジイソプロパノールアミン等のアルカノールアミン塩、ピペラジン、ピペリジン等のその他の有機アミン塩、リジン、アルギニン、ヒスチジン、トリプトファン等の塩基性アミノ酸塩等の塩が挙げられる。一概にこれらの塩類は、その元となる五環性トリテルペン類に比べて、より水溶性を示すため、本発明においては、特に水系の動植物用メラニン生成抑制剤に適用する場合に好ましい。

#### 【0013】

また、誘導体とは、生化学的あるいは人工的に形成可能な誘導体であり、本発明においては、可能な誘導体であれば特に限定はされないが、例えば、アルコールエステル基を有する誘導体、脂肪酸エステル基を有する誘導体、アルコキシ基を有する誘導体、アルコキシメチル基を有する誘導体、あるいは配糖体等が挙げられる。これらのうち、特にアルコールエステル基を有する誘導体、脂肪酸エステル基を有する誘導体、アルコキシ基を有する誘導体、アルコキシメチル基を有する誘導体は、その元となる五環性トリテルペン類に比べて、より脂溶性を示すため、本発明においては、特に油系の動植物用メラニン生成抑制剤に適用する場合に好ましく、また配糖体は、その元となる五環性トリテルペン類に比べて、より水溶性を示すため、本発明においては、特に水系の動植物用メラニン生成抑制剤に適用する場合に好ましい。

これらの誘導体は、一部は天然にも存在し、また、人工的に形成させることで得ることができる。

#### 【0014】

アルコールエステル基とは、一般的なカルボキシル基とアルコール類との脱水反応の結果として形成される官能基を示す（部分構造： $\text{—COOR}$ ；Rは任意の炭化水素系官能基を示す。）。すなわち、本発明における五環性トリテルペン類の、アルコールエステル基を有する誘導体とは、特に、そのカルボキシル基とアルコール類から形成可能な誘導体を示す。この際のアルコール類に特に制限は無いが、例えば、メタノール、エタノール、*n*-プロパノール、イソプロパノール

、ア릴アルコール、*n*-ブタノール、*sec*-ブタノール、*tert*-ブタノール、エチレングリコール、トリメチルシリルアルコール、トリエチルシリルアルコール、フェノール、ベンジルアルコール、糖類等が挙げられる。

#### 【0015】

脂肪酸エステル基とは、一般的な水酸基と脂肪酸類との脱水反応の結果として形成される官能基を示す（部分構造： $-\text{OCOR}$ ；Rは任意の炭化水素系官能基を示す。）。すなわち、本発明における五環性トリテルペン類の、脂肪酸エステル基を有する誘導体とは、特に、その水酸基と脂肪酸類から形成可能な誘導体を示す。この際の脂肪酸類に特に制限は無いが、例えば、酢酸、プロピオン酸、酪酸、イソ酪酸、吉草酸、イソ吉草酸、ピバル酸、カプロン酸、カプリル酸、カプリン酸、ウンデカン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、ステアリン酸、オレイン酸、エライジン酸、バクセン酸、リノール酸、リノエライジン酸、リノレン酸、 $\gamma$ -リノレン酸、アラキジン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ベヘン酸、ドコサヘキサエン酸、リグノセリン酸、セロチン酸、モンタン酸、メリシン酸等が挙げられる。

#### 【0016】

アルコキシ基とは、一般的な水酸基とアルコール類との脱水反応の結果として形成される官能基を示す（部分構造： $-\text{OR}$ ；Rは任意の炭化水素系官能基を示す。）。すなわち、本発明における五環性トリテルペン類の、アルコキシ基を有する誘導体とは、特に、その水酸基とアルコール類から形成可能な誘導体を示す。この際のアルコール類に特に制限は無いが、例えば、メタノール、エタノール、*n*-プロパノール、イソプロパノール、ア릴アルコール、*n*-ブタノール、*sec*-ブタノール、*tert*-ブタノール、エチレングリコール、トリメチルシリルアルコール、トリエチルシリルアルコール、フェノール、ベンジルアルコール、糖類等が挙げられる。

#### 【0017】

アルコキシメチル基とは、一般的なヒドロキシメチル基とアルコール類との脱水反応の結果として形成される官能基を示す（部分構造： $-\text{CH}_2\text{OR}$ ；Rは任意の炭化水素系官能基を示す。）。すなわち、本発明における五環性トリテルペ



ン類の、アルコキシメチル基を有する誘導体とは、特に、そのヒドロキシメチル基とアルコール類から形成可能な誘導体を示す。この際のアルコール類に特に制限は無いが、例えば、メタノール、エタノール、*n*-プロパノール、イソプロパノール、アリルアルコール、*n*-ブタノール、*sec*-ブタノール、*tert*-ブタノール、エチレングリコール、トリメチルシリルアルコール、トリエチルシリルアルコール、フェノール、ベンジルアルコール、糖類等が挙げられる。

#### 【0018】

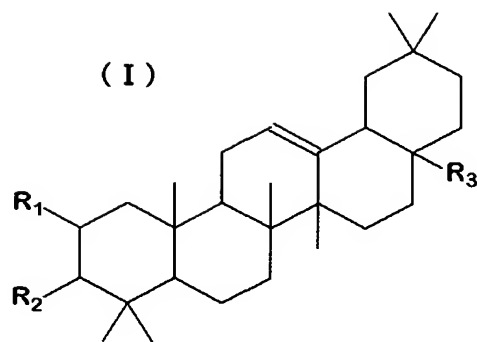
また、本発明における配糖体とは、上記のアルコールエステル基を有する誘導体、アルコキシ基を有する誘導体、アルコキシメチル基を有する誘導体のうち、特に、五環性トリテルペン類のカルボキシル基、水酸基、ヒドロキシメチル基と糖類から形成可能な誘導体を示す（部分構造： $-\text{COOR}$ 、 $-\text{OR}$ 、 $-\text{CH}_2\text{OR}$ ； $R$ は任意の糖類を示す。）。この際の糖類に特に制限は無いが、例えば、グルコース、マンノース、ガラクトース、フルクトース、キシロース、アラビノース、フコース、ラムノース、グルコサミン、ガラクトサミン、グルクロン酸等が挙げられ、何れも $\alpha$ 体、 $\beta$ 体どちらでもよい。またこれらの配糖体は、単糖でもよいし、二糖以上の様々な組み合わせのオリゴ糖でもよい。これらの中には、通常天然に存在し、サポニンという総称で知られているものも有るが、本発明においては、これらのいずれを用いてもよい。

#### 【0019】

本発明における五環性トリテルペン類等は上述の通りであるが、特にメラニン生成抑制効果の高さの面からは、オレアナン系トリテルペン類、ウルサン系トリテルペン類、ルパン系トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体が好ましい。それぞれ、オレアナン系トリテルペン類については一般式（I）に、ウルサン系トリテルペン類については一般式（II）に、ルパン系トリテルペン類については一般式（III）に示される骨格を有する五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体である。また、それぞれの式中の官能基については、上記と同様である。

#### 【0020】

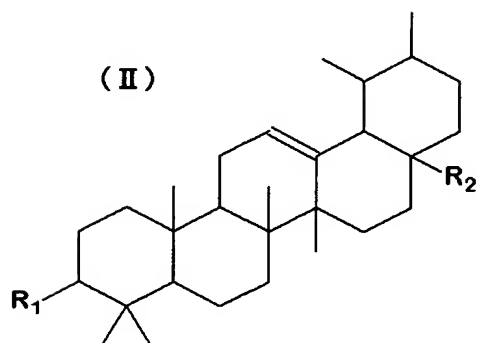
## 【化1】



(式中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>は水素原子(−H)、水酸基(−OH)、アルコキシ基(−OR)、アルコールエステル基(−OCOR)を示し、R<sub>3</sub>はメチル基(−CH<sub>3</sub>)、ヒドロキシメチル基(−CH<sub>2</sub>OH)、アルコキシメチル基(−CH<sub>2</sub>OR)、カルボキシル基(−COOH)、脂肪酸エステル基(−COOR)、カルボン酸塩(−COOX)を示す。)

## 【0021】

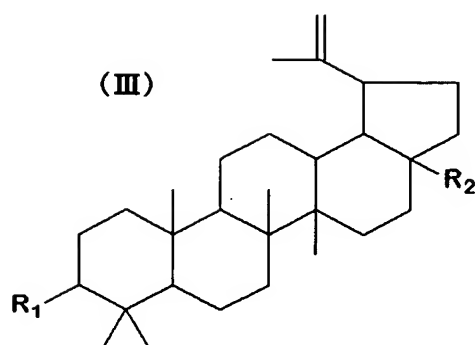
## 【化2】



(式中、R<sub>1</sub>は水素原子(−H)、水酸基(−OH)、アルコキシ基(−OR)、アルコールエステル基(−OCOR)を示し、R<sub>2</sub>はメチル基(−CH<sub>3</sub>)、ヒドロキシメチル基(−CH<sub>2</sub>OH)、アルコキシメチル基(−CH<sub>2</sub>OR)、カルボキシル基(−COOH)、脂肪酸エステル基(−COOR)、カルボン酸塩(−COOX)を示す。)

## 【0022】

【化3】



(式中、R<sub>1</sub>は水素原子(—H)、水酸基(—OH)、アルコキシ基(—OR)、アルコールエステル基(—OCOR)を示し、R<sub>2</sub>はメチル基(—CH<sub>3</sub>)、ヒドロキシメチル基(—CH<sub>2</sub>OH)、アルコキシメチル基(—CH<sub>2</sub>OR)、カルボキシル基(—COOH)、脂肪酸エステル基(—COOR)、カルボン酸塩(—COOX)を示す。)

【 0 0 2 3 】

本発明において特に制限は無いが、例えば、オレアナン系トリテルペン類として、マスリン酸、オレアノール酸、エリトロジオール、 $\beta$ -アミリン、ヘデラゲニン、グリチルレチン酸等が挙げられ、ウルサン系トリテルペン類として、ウルソール酸、ウバオール、 $\alpha$ -アミリン、キノボ酸、タラキサステロール、 $\alpha$ -ヒドロキシウルソール酸等が挙げられ、ルパン系トリテルペン類として、ベツリン酸、ベツリン、ルペオール等が挙げられる。また、これらの生理的に許容される塩および誘導体については、前述と同様である。それらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体を使用する場合には、オレアナン系トリテルペン類、ウルサン系トリテルペン類、ルパン系トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体の由来は制限されず、天然から得られるもの、人工的に合成されたもの、市販品等何れも使用することができるが、飲食への応用を考慮に入れると、天然物を用いることが好ましい。

【 0 0 2 4 】

上述の通り、本発明においては、五環性トリテルペン類のうちのオレアナン系トリテルペン類（I）、ウルサン系トリテルペン類（II）、ルパン系トリテルペン類（III）およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体

が好ましいが、メラニン生成抑制効果の強さの面から更に、オレアナ系トリテルペンとしてマスリン酸、エリトロジオールが好ましく、ウルサン系トリテルペンとしてウルソール酸、ウバオールが好ましく、ルパン系トリテルペンとしてベツリン酸、ベツリンが好ましく、当然に、それらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体が好ましい。

#### 【0025】

マスリン酸、エリトロジオールは、何れもオレアナ系トリテルペン類の一種であり、各種植物中に存在することが知られている物質である。また、これらの生理的に許容される塩および誘導体については、前述と同様である。本発明の動植物用メラニン生成抑制剤において、マスリン酸、エリトロジオール、それらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体を使用する場合には、これらの物質の由来は制限されず、天然から得られるもの、人工的に合成されたもの、市販品等何れも使用することができるが、飲食等への応用を考慮に入れると、天然物を用いることが好ましい。

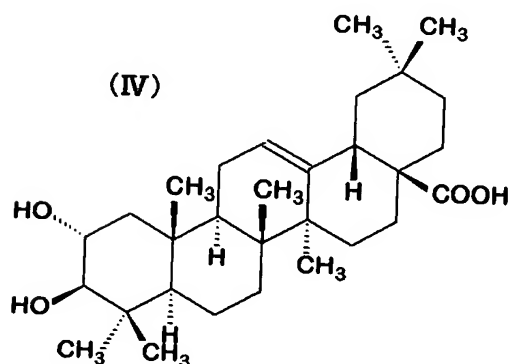
#### 【0026】

本発明においては、メラニン生成抑制効果の高さ、安定供給の面で、マスリン酸および／またはその生理的に許容される塩が最も好ましい。マスリン酸 (maslinic acid) は、オレアナ系トリテルペンの一種で、化学式 (I V) に示す構造であり、作用としては、抗炎症作用や抗ヒスタミン作用を有することが知られている。天然には、オリーブ、ホップ、ハッカ、ザクロ、チョウジ、セージ、ナツメ等に存在することが知られている。本発明の動植物用メラニン生成抑制剤において、マスリン酸、その生理的に許容される塩および誘導体の由来は制限されず、天然から得られるもの、人工的に合成されたもの、市販品等何れも使用することができるが、飲食等への応用を考慮に入れると、例えば、オリーブ、ホップ、ハッカ、ザクロ、チョウジ、セージ、ナツメ等の天然から得られるものが好ましく、特にオリーブから得られるマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩は原料供給や含量の面で非常に好ましい。マスリン酸および／またはその生理的に許容される塩は、これらの原料、特にオリーブ植物から、水および／または有機溶媒により抽出処理することで得ることができ、さらに濃

縮・精製することで高濃度の天然由来マスリン酸および／またはその生理的に許容される塩を簡便かつ大量に得ることができる。

【0027】

【化4】



【0028】

本発明において、マスリン酸の生理的に許容される塩および誘導体については前記記載と同様である。すなわち、その生理的に許容される塩とは化学式 (IV) における  $\text{COOH}$  から誘導されるものであり、その塩の種類は通常飲食物または医薬組成物で用いられるものであれば特に限定はされない。具体的には、例えば、マスリン酸の塩として、マスリン酸ナトリウム、マスリン酸カリウム、マスリン酸アンモニウム、マスリン酸ジメチルアンモニウム、マスリン酸カルシウム、マスリン酸マグネシウム等が挙げられる。

【0029】

また、マスリン酸の誘導体としては、例えば、何れか一個所が誘導体化されているものとして、マスリン酸メチルエステル、マスリン酸エチルエステル、マスリン酸 *n*-プロピルエステル、マスリン酸イソプロピルエステル、マスリン酸 *n*-ブチルエステル、マスリン酸トリメチルシリルエステル、マスリン酸トリエチルシリルエステル、マスリン酸- $\beta$ -D-グルコピラノシルエステル、マスリン酸- $\beta$ -D-ガラクトピラノシルエステル、3-O-アセチル-マスリン酸、3-O-プロピオニル-マスリン酸、3-O-ブチル-マスリン酸、3-O-バレリル-マスリン酸、3-O-カプリル-マスリン酸、3-O-ラウリル-マスリン酸、3-O-ミリスチル-マスリン酸、3-O-パルミチル-マスリン酸、

3-O-パルミトオレイルーマスリン酸、3-O-ステアリルーマスリン酸、3-O-オレイルーマスリン酸、3-O-バクセニルーマスリン酸、3-O-リノレイルーマスリン酸、3-O-リノレニルーマスリン酸、3-O-アラキジルーマスリン酸、3-O-アラキドニルーマスリン酸、3-O-ベヘニルーマスリン酸、2-O-アセチルーマスリン酸、2-O-プロピオニルーマスリン酸、2-O-ブチリルーマスリン酸、2-O-バレリルーマスリン酸、2-O-カプリルーマスリン酸、2-O-ラウリルーマスリン酸、2-O-ミリスチルーマスリン酸、2-O-パルミチルーマスリン酸、2-O-パルミトオレイルーマスリン酸、2-O-ステアリルーマスリン酸、2-O-オレイルーマスリン酸、2-O-バクセニルーマスリン酸、2-O-リノレイルーマスリン酸、2-O-リノレニルーマスリン酸、2-O-アラキジルーマスリン酸、2-O-アラキドニルーマスリン酸、2-O-ベヘニルーマスリン酸、3-O-メチルーマスリン酸、3-O-エチルーマスリン酸、3-O-t-ブチルーマスリン酸、3-O-トリエチルシリルーマスリン酸、3-O- $\beta$ -D-グルコピラノシルーマスリン酸、3-O- $\beta$ -D-ガラクトピラノシルーマスリン酸、3-O- $\beta$ -D-グルクロノピラノシルーマスリン酸、2-O-メチルーマスリン酸、2-O-エチルーマスリン酸、2-O-t-ブチルーマスリン酸、2-O-トリエチルシリルーマスリン酸、2-O- $\beta$ -D-グルコピラノシルーマスリン酸、2-O- $\beta$ -D-ガラクトピラノシルーマスリン酸、2-O- $\beta$ -D-グルクロノピラノシルーマスリン酸等が挙げられる。以上には、誘導体として1基のみ誘導体化されているものを挙げたが、当然、これらのうち誘導される位置および種類が可能な2基以上が誘導体化されたものでもよい。また、配糖体については単糖のもののみ挙げたが、当然、様々な糖類からなる群より選ばれる二糖以上のオリゴ糖でもよい。

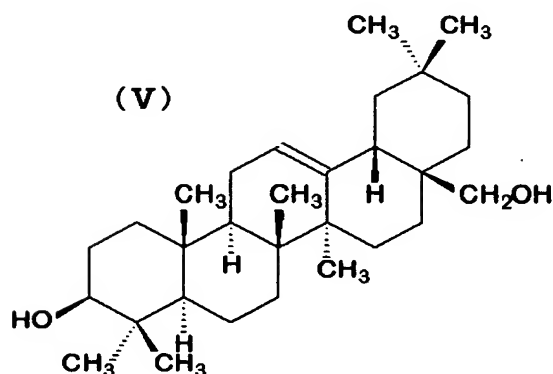
#### 【0030】

エリトロジオール (erythrodio1) は、オレアナン系トリテルペン的一种で、化学式 (V) の様な構造であり、作用としてはこれまでに、抗炎症作用 (Planta. Med. VOL. 61, No. 2, 182-185 1995) 等を有することが知られている。天然には、オリーブ、ヒマワリ、キンセンカ、アラビアゴムノキ、コウキシタン、ナガバカコノキ等に存在することが知

られている。本発明の動植物用メラニン生成抑制剤において、エリトロジオールまたはそれらの誘導体の由来は制限されず、天然から得られるもの、人工的に合成されたもの、市販品等何れも使用することができるが、飲食等への応用を考慮に入れると、例えば、オリーブ、ヒマワリ、キンセンカ、アラビアゴムノキ、コウキシタン、ナガバカコノキ等の天然から得られるものが好ましい。

## 【0031】

## 【化5】



## 【0032】

エリトロジオールについて、その生理的に許容される塩や誘導体については前述と同様である。

ここで、誘導体について以下に制限されないが、例えば、何れか一個所が誘導体化されているものとして、3-O-アセチル-エリトロジオール、3-O-プロピオニル-エリトロジオール、3-O-ブチリル-エリトロジオール、3-O-バレリル-エリトロジオール、3-O-カプリル-エリトロジオール、3-O-ラウリル-エリトロジオール、3-O-ミリスチル-エリトロジオール、3-O-パルミチル-エリトロジオール、3-O-パルミトオレイル-エリトロジオール、3-O-ステアリル-エリトロジオール、3-O-オレイル-エリトロジオール、3-O-バクセニル-エリトロジオール、3-O-リノレイル-エリトロジオール、3-O-リノレニル-エリトロジオール、3-O-アラキジル-エリトロジオール、3-O-アラキドニル-エリトロジオール、3-O-ベヘニル-エリトロジオール、28-O-アセチル-エリトロジオール、28-O-プロピオニル-エリトロジオール、28-O-ブチリル-エリトロジオール、28-

〇-バレルル-エリトロジオール、28-〇-カプリル-エリトロジオール、28-〇-ラウリル-エリトロジオール、28-〇-ミリスチル-エリトロジオール、28-〇-パルミチル-エリトロジオール、28-〇-パルミトオレイル-エリトロジオール、28-〇-ステアリル-エリトロジオール、28-〇-オレイル-エリトロジオール、28-〇-バクセニル-エリトロジオール、28-〇-リノレイル-エリトロジオール、28-〇-リノレニル-エリトロジオール、28-〇-アラキジル-エリトロジオール、28-〇-アラキドニル-エリトロジオール、28-〇-ベヘニル-エリトロジオール、3-〇-メチル-エリトロジオール、3-〇-エチル-エリトロジオール、3-〇-*t*-ブチル-エリトロジオール、3-〇-トリエチルシリル-エリトロジオール、28-〇-メチル-エリトロジオール、28-〇-エチル-エリトロジオール、28-〇-*t*-ブチル-エリトロジオール、28-〇-トリエチルシリル-エリトロジオール、3-〇- $\beta$ -D-グルコピラノシル-エリトロジオール、3-〇- $\beta$ -D-ガラクトピラノシル-エリトロジオール、3-〇- $\beta$ -D-グルクロノピラノシル-エリトロジオール、28-〇- $\beta$ -D-グルコピラノシル-エリトロジオール、28-〇- $\beta$ -D-ガラクトピラノシル-エリトロジオール、28-〇- $\beta$ -D-グルクロノピラノシル-エリトロジオール等が挙げられる。以上には、誘導体として1基のみ誘導体化されているものを挙げたが、当然、これらのうち誘導される位置および種類が可能な2基以上が誘導体化されたものでもよい。また、配糖体については単糖のもののみ挙げたが、当然、様々な糖類からなる群より選ばれる二糖以上のオリゴ糖でもよい。

### 【0033】

ウルソール酸、ウバオール、は、何れもウルサン系トリテルペン類の一種であり、各種植物中に存在することが知られている物質である。また、これらの生理的に許容される塩および誘導体については、前述と同様である。本発明の動植物用メラニン生成抑制剤において、ウルソール酸、ウバオール、それらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体を使用する場合には、これらの物質の由来は制限されず、天然から得られるもの、人工的に合成されたもの、市販品等何れも使用することができるが、飲食等への応用を考慮に入れると、天然物を用いる



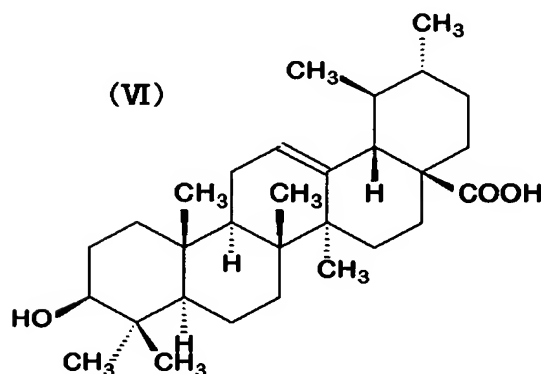
ことが好ましい。

【0034】

ウルソール酸 (ursolic acid) は、ウルサン系トリテルペンの一  
種で、化学式 (VI) で示される構造の化合物で、作用としてはこれまでに、抗  
炎症作用、抗肥満作用、抗糖尿病作用、抗高脂血症作用 (Jie Liu, J o  
urnal of Ethnopharmacology, 49, 57-68,  
1995) 等を有することが知られている。天然には、リンゴ、サクランボ、ウ  
ワウルシ等の果実や葉に広く分布することが知られている。本発明の動植物用メ  
ラニン生成抑制剤において、ウルソール酸、それらの生理的に許容される塩、ま  
たはそれらの誘導体の由来は制限されず、天然から得られるもの、人工的に合成  
されたもの、市販品等何れも使用することができるが、飲食等への応用を考慮に  
入れると、例えば、リンゴ、サクランボ、ウワウルシ等の天然から得られるもの  
が好ましい。

【0035】

【化6】



【0036】

ウルソール酸について、その生理的に許容される塩や誘導体については前述と  
同様である。

ここで、その生理的に許容される塩について以下に制限されないが、例えば、  
ウルソール酸の塩として、ウルソール酸ナトリウム、ウルソール酸カリウム、ウ  
ルソール酸アンモニウム、ウルソール酸ジメチルアンモニウム、ウルソール酸カ  
ルシウム、ウルソール酸マグネシウム等が挙げられる。

## 【0037】

ウルソール酸の誘導体としては、例えば、何れか一個所が誘導体化されているものとして、ウルソール酸メチルエステル、ウルソール酸エチルエステル、ウルソール酸 *n*-プロピルエステル、ウルソール酸イソプロピルエステル、ウルソール酸 *n*-ブチルエステル、ウルソール酸トリメチルシリルエステル、ウルソール酸トリエチルシリルエステル、ウルソール酸- $\beta$ -D-グルコピラノシルエステル、ウルソール酸- $\beta$ -D-ガラクトピラノシルエステル、3-O-アセチルウルソール酸、3-O-プロピオニルウルソール酸、3-O-ブチリルウルソール酸、3-O-バレリルウルソール酸、3-O-カプリルウルソール酸、3-O-ラウリルウルソール酸、3-O-ミリスチルウルソール酸、3-O-パルミチルウルソール酸、3-O-パルミトオレイルウルソール酸、3-O-ステアリルウルソール酸、3-O-オレイルウルソール酸、3-O-バクセニルウルソール酸、3-O-リノレイルウルソール酸、3-O-リノレニルウルソール酸、3-O-アラキジルウルソール酸、3-O-アラキドニルウルソール酸、3-O-ベヘニルウルソール酸、3-O-メチルウルソール酸、3-O-エチルウルソール酸、3-O-*t*-ブチルウルソール酸、3-O-トリエチルシリルウルソール酸、3-O- $\beta$ -D-グルコピラノシルウルソール酸、3-O- $\beta$ -D-ガラクトピラノシルウルソール酸、3-O- $\beta$ -D-グルクロノピラノシルウルソール酸等が挙げられる。以上には、誘導体として1基のみ誘導体化されているものを挙げたが、当然、これらのうち誘導される位置および種類が可能な2基以上が誘導体化されたものでもよい。また、配糖体については単糖のもののみ挙げたが、当然、様々な糖類からなる群より選ばれる二糖以上のオリゴ糖でもよい。

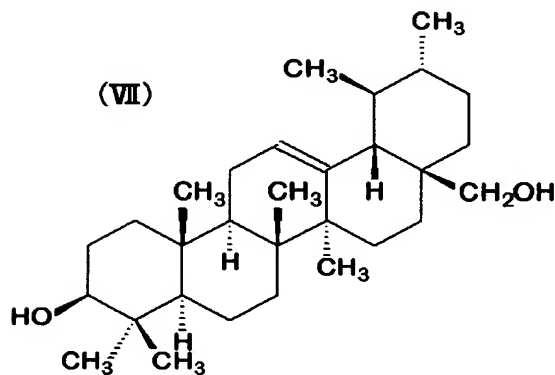
## 【0038】

ウバオール (uvaol) は、ウルサン系トリテルペン的一种で、化学式 (V II) の様な構造であり、作用としてはこれまでに、抗炎症作用 (Planta Med. VOL. 61, No. 2, 182-185 1995)、グリセロリン酸脱水素酵素阻害作用 (特開平9-67249) 等を有することが知られている。天然には、オリーブ、ウワウルシ、セージ、アラビアゴムノキ、カユプテ

等に存在することが知られている。本発明の動植物用メラニン生成抑制剤において、ウバオールまたはそれらの誘導体の由来は制限されず、天然から得られるもの、人工的に合成されたもの、市販品等何れも使用することができるが、飲食等への応用を考慮に入れると、例えば、オリーブ、ウワウルシ、セージ、アラビアゴムノキ、カユプテ等の天然から得られるものが好ましい。

【0039】

【化7】



【0040】

ウバオールについて、その生理的に許容される塩や誘導体については前述と同様である。

ここで、誘導体について以下に制限されないが、例えば、何れか一個所が誘導体化されているものとして、3-O-アセチル-ウバオール、3-O-プロピオニル-ウバオール、3-O-ブチリル-ウバオール、3-O-バレリル-ウバオール、3-O-カプリル-ウバオール、3-O-ラウリル-ウバオール、3-O-ミリスチル-ウバオール、3-O-パルミチル-ウバオール、3-O-パルミトオレイル-ウバオール、3-O-ステアリル-ウバオール、3-O-オレイル-ウバオール、3-O-バクセニル-ウバオール、3-O-リノレイル-ウバオール、3-O-リノレニル-ウバオール、3-O-アラキジル-ウバオール、3-O-アラキドニル-ウバオール、3-O-ベヘニル-ウバオール、28-O-アセチル-ウバオール、28-O-プロピオニル-ウバオール、28-O-ブチリル-ウバオール、28-O-バレリル-ウバオール、28-O-カプリル-ウバオール、28-O-ラウリル-ウバオール、28-O-ミリスチル-ウバオール

ル、28- $\alpha$ -パルミチルーウバオール、28- $\alpha$ -パルミトオレイルーウバオール、28- $\alpha$ -ステアリルーウバオール、28- $\alpha$ -オレイルーウバオール、28- $\alpha$ -バクセニルーウバオール、28- $\alpha$ -リノレイルーウバオール、28- $\alpha$ -リノレニルーウバオール、28- $\alpha$ -アラキジルーウバオール、28- $\alpha$ -アラキドニルーウバオール、28- $\alpha$ -ベヘニルーウバオール、3- $\alpha$ -メチルーウバオール、3- $\alpha$ -エチルーウバオール、3- $\alpha$ -*t*-ブチルーウバオール、3- $\alpha$ -トリエチルシリルーウバオール、28- $\alpha$ -メチルーウバオール、28- $\alpha$ -エチルーウバオール、28- $\alpha$ -*t*-ブチルーウバオール、28- $\alpha$ -トリエチルシリルーウバオール、3- $\alpha$ - $\beta$ -D-グルコピラノシルーウバオール、3- $\alpha$ - $\beta$ -D-ガラクトピラノシルーウバオール、3- $\alpha$ - $\beta$ -D-グルクロノピラノシルーウバオール、28- $\alpha$ - $\beta$ -D-グルコピラノシルーウバオール、28- $\alpha$ - $\beta$ -D-ガラクトピラノシルーウバオール、28- $\alpha$ - $\beta$ -D-グルクロノピラノシルーウバオール等が挙げられる。以上には、誘導体として1基のみ誘導体化されているものを挙げたが、当然、これらのうち誘導される位置および種類が可能な2基以上が誘導体化されたものでもよい。また、配糖体については単糖のもののみ挙げたが、当然、様々な糖類からなる群より選ばれる二糖以上のオリゴ糖でもよい。

#### 【0041】

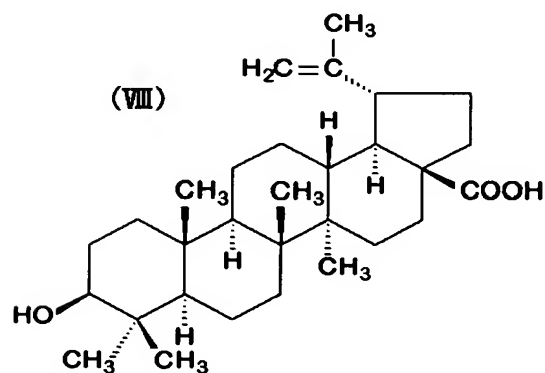
ベツリン酸、ベツリン、は、何れもルパン系トリテルペン類の一種であり、各種植物中に存在することが知られている物質である。また、これらの生理的に許容される塩および誘導体については、前述と同様である。本発明の動植物用メラニン生成抑制剤において、ベツリン酸、ベツリン、それらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体を使用する場合には、これらの物質の由来は制限されず、天然から得られるもの、人工的に合成されたもの、市販品等何れも使用することができるが、飲食等への応用を考慮に入れると、天然物を用いることが好ましい。

#### 【0042】

ベツリン酸 (betulinic acid) は、ルパン系トリテルペンの一種で、化学式 (VII) の様な構造であり、作用としてはこれまでに、制癌作

【 0 0 4 3 】

【化8】



**【 0 0 4 4 】**

ここで、その生理的に許容される塩について以下に制限されないが、例えば、ベツリン酸の塩として、ベツリン酸ナトリウム、ベツリン酸カリウム、ベツリン酸アンモニウム、ベツリン酸ジメチルアンモニウム、ベツリン酸カルシウム、ベツリン酸マグネシウム等が挙げられる。

【 0 0 4 5 】

ベツリン酸の誘導体としては、例えば、何れか一個所が誘導体化されているものとして、ベツリン酸メチルエステル、ベツリン酸エチルエステル、ベツリン酸

n-プロピルエステル、ベツリン酸イソプロピルエステル、ベツリン酸n-ブチルエステル、ベツリン酸トリメチルシリルエステル、ベツリン酸トリエチルシリルエステル、ベツリン酸- $\beta$ -D-グルコピラノシルエステル、ベツリン酸- $\beta$ -D-ガラクトピラノシルエステル、3-O-アセチル-ベツリン酸、3-O-プロピオニル-ベツリン酸、3-O-ブチリル-ベツリン酸、3-O-バレリル-ベツリン酸、3-O-カプリル-ベツリン酸、3-O-ラウリル-ベツリン酸、3-O-ミリスチル-ベツリン酸、3-O-パルミチル-ベツリン酸、3-O-パルミトオレイル-ベツリン酸、3-O-ステアリル-ベツリン酸、3-O-オレイル-ベツリン酸、3-O-バクセニル-ベツリン酸、3-O-リノレイル-ベツリン酸、3-O-リノレニル-ベツリン酸、3-O-アラキジル-ベツリン酸、3-O-アラキドニル-ベツリン酸、3-O-ベヘニル-ベツリン酸、3-O-メチル-ベツリン酸、3-O-エチル-ベツリン酸、3-O-t-ブチル-ベツリン酸、3-O-トリエチルシリル-ベツリン酸、3-O- $\beta$ -D-グルコピラノシル-ベツリン酸、3-O- $\beta$ -D-ガラクトピラノシル-ベツリン酸、3-O- $\beta$ -D-グルクロノピラノシル-ベツリン酸等が挙げられる。以上には、誘導体として1基のみ誘導体化されているものを挙げたが、当然、これらのうち誘導される位置および種類が可能な2基以上が誘導体化されたものでもよい。また、配糖体については単糖のもののみ挙げたが、当然、様々な糖類からなる群より選ばれる二糖以上のオリゴ糖でもよい。

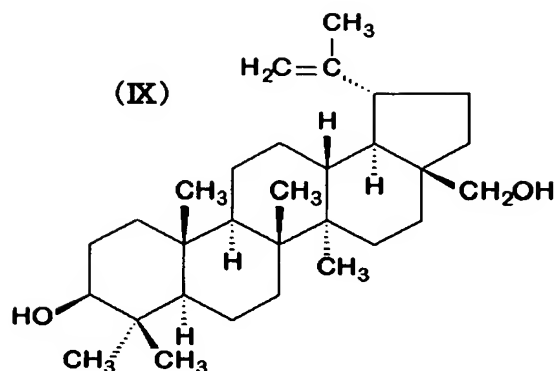
#### 【0046】

ベツリン (betulin) は、ルバン系トリテルペン的一种で、化学式 (IX) の様な構造であり、作用としてはこれまでに、生体タンパク質変性抑制作用 (特開平9-67253)、グリセロリン酸脱水素酵素阻害作用 (特開平9-67249)、リパーゼ阻害作用 (特開平10-265328)、肝疾患予防作用 (特開平11-209275) 等を有することが知られている。天然には、シラカバの樹皮等に存在することが知られている。本発明の動植物用メラニン生成抑制剤において、ベツリンまたはそれらの誘導体の由来は制限されず、天然から得られるもの、人工的に合成されたもの、市販品等何れも使用することができるが、飲食等への応用を考慮に入れると、例えば、シラカバの樹皮等の天然から得ら

れるものが好ましい。

【0047】

【化9】



【0048】

ベツリンについて、その生理的に許容される塩や誘導体については前述と同様である。

ここで、誘導体について以下に制限されないが、例えば、何れか一個所が誘導体化されているものとして、3-O-アセチルベツリン、3-O-プロピオニルベツリン、3-O-ブチリルベツリン、3-O-バレリルベツリン、3-O-カプリルベツリン、3-O-ラウリルベツリン、3-O-ミリスチルベツリン、3-O-パルミチルベツリン、3-O-パルミトオレイルベツリン、3-O-ステアリルベツリン、3-O-オレイルベツリン、3-O-バクセニルベツリン、3-O-リノレイルベツリン、3-O-リノレニルベツリン、3-O-アラキジルベツリン、3-O-アラキドニルベツリン、3-O-ベヘニルベツリン、28-O-アセチルベツリン、28-O-プロピオニルベツリン、28-O-ブチリルベツリン、28-O-バレリルベツリン、28-O-カプリルベツリン、28-O-ラウリルベツリン、28-O-ミリスチルベツリン、28-O-パルミチルベツリン、28-O-パルミトオレイルベツリン、28-O-ステアリルベツリン、28-O-オレイルベツリン、28-O-バクセニルベツリン、28-O-リノレイルベツリン、28-O-リノレニルベツリン、28-O-アラキジルベツリン、28-O-アラキドニルベツリン、28-O-ベヘニルベツリン、3-O-

メチルーベツリン、3-O-エチルーベツリン、3-O-t-ブチルーベツリン、3-O-トリエチルシリルーベツリン、28-O-メチルーベツリン、28-O-エチルーベツリン、28-O-t-ブチルーベツリン、28-O-トリエチルシリルーベツリン、3-O- $\beta$ -D-グルコピラノシルーベツリン、3-O- $\beta$ -D-ガラクトピラノシルーベツリン、3-O- $\beta$ -D-グルクロノピラノシルーベツリン、28-O- $\beta$ -D-グルコピラノシルーベツリン、28-O- $\beta$ -D-ガラクトピラノシルーベツリン、28-O- $\beta$ -D-グルクロノピラノシルーベツリン等が挙げられる。以上には、誘導体として1基のみ誘導体化されているものを挙げたが、当然、これらのうち誘導される位置および種類が可能な2基以上が誘導体化されたものでもよい。また、配糖体については単糖のもののみ挙げたが、当然、様々な糖類からなる群より選ばれる二糖以上のオリゴ糖でもよい。

#### 【0049】

これらの五環性トリテルペン類は、天然には、それぞれに記載した植物体から抽出することで得ることができる。すなわち、各植物体から、水および／または有機溶媒で抽出でき、さらにその抽出物から、溶媒抽出法、不純物との溶解度差を利用する方法、分別沈殿法、再結晶法、イオン交換樹脂法、液体クロマトグラフ法等を単独または適宜組み合わせ、あるいは反復使用することによって分離精製することができる。

#### 【0050】

特に、マスリン酸および／またはその生理的に許容される塩は、オリーブ植物等から、水および／または有機溶媒で抽出でき、さらにその抽出物から、溶媒抽出法、不純物との溶解度差を利用する方法、分別沈殿法、再結晶法、イオン交換樹脂法、液体クロマトグラフ法等を単独または適宜組み合わせ、あるいは反復使用することによって分離精製することができる。

#### 【0051】

オリーブ植物 (*Olea europaea* L.) は、国産、欧州産などの産地、食用あるいは搾油用を問わず使用できる。本発明の動植物用メラニン生成抑制剤に含有されるマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩は、天



然植物であるオリーブ植物の主に、実または種子から得ることができ、さらに、その種皮、葉、茎、芽から得ることができる。また、これらの乾燥物、粉碎物、脱脂物からも好適に得ることができる。上記オリーブ植物はマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩を含有するので、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤、およびその原料、飼料、肥料、黒変・褐変防止組成物において、該オリーブ植物を使用することもできる。すなわち、本発明は、オリーブ植物を含有する動植物用メラニン生成抑制剤に関し、オリーブ植物を含有する動植物用メラニン生成抑制剤原料に関し、オリーブ植物を含有する飼料に関し、オリーブ植物を含有する肥料に関し、オリーブ植物を含有する黒変・褐変防止組成物に関する。

また、上記オリーブ植物の果実やその脱脂物等に、添水する等により加水した場合、あるいは蒸気により蒸す等の加湿処理を行った場合、これらオリーブ植物の果実やその脱脂物等が適度に膨潤するので、抽出効率が良くなり好ましい。

#### 【0052】

特に、オリーブ植物の脱脂物には、マスリン酸および／またはその生理的に許容される塩が高濃度で存在し、かつ、得られたマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩から油分を除去する必要があるため好ましい。

当該脱脂物は、食油精製工程中に産出するオリーブ搾油残渣、またはヘキサン等による抽出残渣を原料とすることができる。

また、オリーブ植物または当該脱脂物に含まれる脂質成分をペンタン、ヘキサン、ヘプタン等の炭化水素、酢酸エチルエステル等の低級脂肪酸アルキルエステル、ジエチルエーテル等の非水溶性有機溶媒の1種又は2種以上で抽出除去し、更に必要に応じてこの洗浄処理を繰り返した脱脂物も好適に利用できる。

#### 【0053】

上記オリーブ植物から水および／または有機溶媒で抽出することにより、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤に含有されるマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩を得ることができる。また、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤、およびその原料、飼料、肥料、黒変・褐変防止組成物において、該オリーブ抽出物を使用することもできる。すなわち、本発明は、オリーブ抽出物を含

有する動植物用メラニン生成抑制剤に関し、オリーブ抽出物を含有する動植物用メラニン生成抑制剤原料に関し、オリーブ抽出物を含有する飼料に関し、オリーブ抽出物を含有する肥料に関し、オリーブ抽出物を含有する黒変・褐変防止組成物に関する。

#### 【0054】

オリーブ植物からマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩を得るために用いる有機溶媒としては、親水性有機溶媒、疎水性有機溶媒のいずれでもよい。具体的には、親水性有機溶媒として、メチルアルコール、エチルアルコール、グリセリン、プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコール等のアルコール、アセトン、テトラヒドロフラン、アセトニトリル、1, 4-ジオキサン、ピリジン、ジメチルスルホキシド、N, N-ジメチルホルムアミド、酢酸等の公知の有機溶媒が挙げられ、疎水性有機溶媒として、ヘキサン、シクロヘキサン、四塩化炭素、クロロホルム、ジクロロメタン、1, 2-ジクロロエタン、ジエチルエーテル、酢酸エチル、ベンゼン、トルエン等の公知の有機溶媒が挙げられる。また、これらの有機溶媒は1種または2種以上を組み合わせ使用することができる。

#### 【0055】

工業的には、例えば植物組織への浸透性、抽出効率等からは、親水性有機溶媒を用いることが好ましく、また含水親水性有機溶媒を用いることが好ましい。具体的にはメチルアルコール、エチルアルコール、グリセリン、プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコール等のアルコール、アセトン、テトラヒドロフラン、アセトニトリル等の有機溶媒およびこれらの含水溶媒が挙げられる。これらの中からなる群より選ばれる、1種または2種以上により、オリーブ植物から、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤に含有されるマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩を得ることができる。

抽出条件は、特に限定されないが、例えば、温度は5℃～95℃、好ましくは10℃～90℃、さらに好ましくは15℃～85℃で、常温でも好適に抽出することができる。温度が高いほうが、抽出効率が高くなる傾向はある。圧力は、常圧でも、加圧でも、吸引等による減圧でも好適に抽出することができる。また、

抽出効率を向上させるため、振とう抽出や、攪拌機等のついた抽出機でも抽出することができる。抽出時間は、他の抽出条件によるが、数分～数時間であり、長時間なほど十分な抽出がなされるが、生産設備、収率等の生産条件によって適宜決めれば良い。

また、抽出に使用する溶媒は、原料に対し 1～100 倍量（「質量／質量」。以下同様。）、好ましくは 1～20 倍量を使用することができる。

#### 【0056】

また、人体等への安全性等を考えれば、特に、水、含水低級アルコール、無水低級アルコールの何れかにより抽出することが好ましい。

#### 【0057】

さらに、得られるマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩の収率や、メラニン生成抑制効果の強さをも考慮に入れた場合、低級アルコール含量が 10 質量%以上である含水低級アルコールで抽出することが好ましい。さらには低級アルコール含量が 10 質量%～95 質量%の含水アルコールを使用することが好ましく、最も好ましくは低級アルコール含量が 30 質量%～95 質量%に調節された含水低級アルコールが好ましい。

#### 【0058】

ここで、本発明で使用するアルコールは、メチルアルコール、エチルアルコール、1-プロパノール、1-ブタノール等の 1 級アルコール、2-プロパノール、2-ブタノール等の 2 級アルコール、2-メチル-2-プロパノール等の 3 級アルコールさらにエチレングリコール、プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコール等の液状多価アルコール等の溶媒が挙げられ、これらの溶媒は 1 種または 2 種以上を組み合わせ使用することができる。

#### 【0059】

低級アルコールとは、炭素数が 1～4 である公知のアルコール、例えば、前述の 1、2、3 級、もしくは、液状多価のアルコール等があげられ、これらの 1 種または 2 種以上を組み合わせ使用することができる。

#### 【0060】

このようにして得られた粗抽出液から、溶媒、水分を除去することで、本発明

におけるマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩を得ることができる。

溶媒、水分の除去は減圧蒸留、減圧・真空乾燥、凍結乾燥、スプレードライ等の公知の方法で行うことができる。

もちろん、溶媒、水分を含んだままでも良く特に状態は制限されない。

#### 【0061】

脱脂物からの抽出物は、トリグリセライドやステロール、トコフェロール等の油溶性成分は含有していないので、これらを除去、精製する必要がないため、好ましい。加えて、脱脂物とは、搾油後の残渣を含むので、オリーブ油を搾油した圧搾粕および抽出粕を使用できることから、オリーブの極めて優れた有効利用方法であり、通常は廃棄または飼料等に使用されるものを利用するため、生産コストの面から見ても優れた方法といえる。

#### 【0062】

さらに、オリーブ植物から抽出されるマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩のメラニン生成抑制効果をより一層引き出すためには、マスリン酸および／またはその生理的に許容される塩を濃縮処理等することが好ましい。

#### 【0063】

濃縮条件は、特に限定されないが、例えば、水への溶解性を利用した方法が挙げられる。本発明の動植物用メラニン生成抑制剤に含有されるマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩は、比較的極性が低く、難水溶性の化合物である。この性質を利用して、オリーブ植物からの粗抽出物を水に溶解しにくい成分および／または水に溶解しない成分、つまり難水溶性等の成分と水に容易に溶ける成分とに分けることで、大幅に濃縮することができる。オリーブ植物からの粗抽出物に含まれる難水溶性等の成分は、オリーブ植物からの粗抽出物全体と比べても、大幅にメラニン生成抑制効果に優れており、マスリン酸および／またはその生理的に許容される塩が濃縮されていることが確認できる。

難水溶性等の成分は、オリーブ植物からの粗抽出物を水に添加・攪拌した後、析出している部分を濾過等により採取することで簡易に得ることができる。

#### 【0064】

また、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤に含有されるマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩は、必要に応じて、一般的な溶剤の組み合わせによる液-液分配により濃縮することができる。溶剤の組み合わせは一概に規定し難いが、例えば、水-疎水性有機溶媒の組み合わせが挙げられ、疎水性有機溶媒としては、ヘキサン、四塩化炭素、クロロホルム、ジクロロメタン、1, 2-ジクロロエタン、ジエチルエーテル、酢酸エチル、n-ブタノール、ベンゼン、トルエン等の公知の有機溶媒が挙げられる。

マスリン酸および／またはその生理的に許容される塩は難水溶性であるため、疎水性有機溶媒相を分取することで、不要な水溶性成分を除去することができる。溶媒を除去することで、容易にマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩を濃縮することができる。

#### 【0065】

さらに、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤に含有されるマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩は、上述した抽出物および／または濃縮物から分画・精製処理することが好ましい。これにより上記濃縮以上に濃縮することができ、目的とする成分を単離することができる。

分画・精製処理することの利点としては、メラニン生成抑制効果等を非常に向上させることができることに加え、不純物を除去することができること等が挙げられる。すなわち、該分画・精製処理した場合、マスリン酸および／またはその生理的に許容される塩を白色結晶として得ることができるため、使用の際に余計な色をつけることなく好適に配合することができる等のメリットがあり、好ましい。

#### 【0066】

分画・精製処理の方法については一概に規定し難いが、例えば、再結晶法、分別沈殿法、クロマトグラフィーを利用する方法などが挙げられる。特にクロマトグラフィーの中でも液体クロマトグラフィーを利用する方法は、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤に含有されるマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩を分解することなく、収率良く分画・精製出来るので、好ましい。液体クロマトグラフィーとしては、具体的に、順相液体クロマトグラフィー、逆相液

体クロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー、ペーパークロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）等が挙げられるが、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤に含有されるマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩を分画・精製処理する際には、いずれの方法を用いることができる。とりわけ、分離能、処理量、工程数等を考慮に入れると、順相液体クロマトグラフィー、逆相液体クロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）が好ましい。

#### 【0067】

ここで、順相液体クロマトグラフィーとは、例えば以下のような方法を指す。すなわち、例えばシリカゲルを固定相、ヘキサン-酢酸エチル混液、クロロホルム-メタノール混液等を移動相としたカラムを作成し、オリーブ植物からの粗抽出物あるいはその濃縮物を負荷率 0.1～5%（w t（質量）／v（体積））で供し、単一移動相による連続的溶出法あるいは溶媒極性を順次増加させる段階的溶出法により、所定の画分を溶出させる方法である。

逆相液体クロマトグラフィーとは、例えば以下のような方法を指す。すなわち、例えばオクタデシルシランを結合させたシリカ（ODS）を固定相、水-メタノール混液、水-アセトニトリル混液、水-アセトン混液等を移動相としたカラムを作成し、オリーブ植物からの粗抽出物あるいはその濃縮物を負荷率 0.1～5%（w t（質量）／v（体積））で供し、単一溶媒による連続的溶出法あるいは溶媒極性を順次低下させる段階的溶出法により、所定の画分を溶出させる方法である。

高速液体クロマトグラフィー（HPLC）とは、原理的には、上記順相液体クロマトグラフィーあるいは逆相液体クロマトグラフィーと同様のものであり、より迅速かつ高分離能での分画・精製を行うためのものである。

上記手法を 1 種または 2 種以上組み合わせることで、マスリン酸および／またはその生理的に許容される塩を非常に濃縮でき、かつ、不純物が除去された状態で得ることができるため好ましい。

さらに、上記手法を 1 種または 2 種以上組み合わせることで、マスリン酸および／またはその生理的に許容される塩の純度を調整することができ、必要に応じ

たメラニン生成抑制効果の強さ、特性等を設計することもできる。

#### 【 0 0 6 8 】

前述した濃縮処理について、好ましくは繰り返し濃縮処理することができ、さらには異なる濃縮処理を組み合わせることができる。同様に、分画・精製処理について、好ましくは繰り返し分画・精製処理することができ、さらには異なる分画・精製処理を組み合わせることができる。さらに、濃縮処理を行った後に分画・精製処理しても良く、分画・精製処理を行った後に分画・精製処理しても良く、濃縮処理した後に分画・精製処理を行い更に濃縮処理することもできる。当然、前述の組み合わせ以外の組み合わせでも良い。

#### 【 0 0 6 9 】

上記に記載した抽出処理、濃縮処理、分画および／または精製処理等を様々な組み合わせることによって、マスリン酸および／またはその生理的に許容される塩を好適に得ることができる。その組み合わせについては特に限定されないが、一連の処理の具体例としては以下のような方法が挙げられる。

例えば、オリーブ植物を水および／または親水性有機溶媒で抽出処理した後、得られた抽出液について親水性有機溶媒の一部または全部を除去し、水層部に析出した水不溶分を回収することで濃縮する。析出した水不溶分は、濾過や遠心分離等によって回収することができるが、この回収効率の向上のため、必要に応じ水溶液に対して水の添加・攪拌等の処理を行うことができる。また、オリーブ植物から得られる抽出液の水および／または親水性有機溶媒を除去した乾固状態の抽出物についても、上記同様に水の添加・攪拌等の処理を行い、濾過等によりその水不溶分を回収することで濃縮処理することができる。この濃縮方法によれば、水系での処理であるので、溶剤を用いた濃縮よりも安全性に優れ、また、使用できる機器の範囲も広いため好ましい。また、油分がほとんど含まれていないため、濃縮・精製の効率にも優れており、好ましい。

これらの濃縮物を順相および／または逆相クロマトグラフィーおよび／または再結晶にて分画・精製処理することにより、高純度に精製されたマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩を好適に得ることができる。

#### 【 0 0 7 0 】

また、オリーブ植物から得られる抽出液について親水性有機溶媒を除去し、残った水溶液に対して、必要に応じて水を添加し、更に疎水性有機溶媒を添加することで、水-疎水性有機溶媒での液-液分配により濃縮処理することができる。また、乾固状態の抽出物についても、上記同様に水を添加し、更に疎水性有機溶媒を添加することで、水-疎水性有機溶媒での液-液分配により濃縮処理することができる。これらの濃縮物を順相および／または逆相クロマトグラフィーおよび／または再結晶にて分画・精製処理することにより、高純度に精製されたマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩を得ることができる。

#### 【0071】

本発明の動植物用メラニン生成抑制剤は、マスリン酸および／またはその生理的に許容される塩を含有させることができるが、前記抽出物及び濃縮物を含有させることでも本発明の動植物用メラニン生成抑制剤を得ることもできる。また、濃縮、精製等の度合いを調整することで、マスリン酸および／またはその生理的に許容される塩の濃度等を調整することができ、動植物用メラニン生成抑制剤へ好適に配合することができる。

#### 【0072】

オリーブ油にはマスリン酸が含有されていることから、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤、およびその原料、飼料、肥料、黒変・褐変防止組成物において、油性成分としてオリーブ油を使用することで、好適なメラニン生成抑制効果や黒変・褐変防止効果が得られるため好ましい。

#### 【0073】

また、オリーブ植物からマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩を抽出する場合には、同時にオレアノール酸および／またはその生理的に許容される塩が抽出されるが、このオレアノール酸および／またはその生理的に許容される塩は、マスリン酸との相溶性に優れている点から、これらの混合物を本発明の動植物用メラニン生成抑制剤に直接配合することができる。これにより、それぞれが有する生理効果について相乗効果が期待でき、特にマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩の本発明におけるメラニン生成抑制効果について相乗効果が期待できるため好ましい。マスリン酸および／またはその生理的に



許容される塩をオリーブ植物から抽出、分離精製等するに際し、その条件を調整することで、オレアノール酸および／またはその生理的に許容される塩との混合物として得ることもでき、オリーブ植物からそれぞれ別々にマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩、オレアノール酸および／またはその生理的に許容される塩を単離し、後に混合することでも得ることができる。また、それぞれ異なる原料から得られたマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩と、オレアノール酸および／またはその生理的に許容される塩を混合した物でも良い。

#### 【0074】

本発明は、上記五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上を有効成分とする動植物用メラニン生成抑制剤に関する。ここで、これらを有効成分として含有するとは、そのメラニン生成抑制効果を発揮する程度に含有するということであるが、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤におけるその含量は、含有する五環性トリテルペン類の種類、使用形態、使用目的、使用量、使用頻度、メラニン生成の度合い等によって適宜調整すれば良いため、一概には規定できず、本発明は以下に限定されるものではないが、例えば、0.00001質量%以上、好ましくは0.00001～99.99質量%、より好ましくは0.0001～99.99質量%、さらに好ましくは0.0005～99.99質量%、さらに好ましくは0.001～99.99質量%、さらに好ましくは0.005～99.99質量%、さらに好ましくは0.01～99.99質量%、さらに好ましくは0.05～99.99質量%、さらに好ましくは0.1～99.99質量%、さらに好ましくは0.5～99.99質量%、さらに好ましくは1～99.99質量%である。

#### 【0075】

本発明の発明者らによって、五環性トリテルペン類および／またはその生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体が、優れたメラニン生成抑制効果を有すること、特にマスリン酸および／またはその生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体が、極めて優れたメラニン生成抑制効果を有することが見出された。

本発明において、メラニン生成抑制効果とは、動植物の生命活動の結果として生ずる、黒～褐色を呈するメラニンの生成を抑制あるいは防止する効果を示し、動植物体および／またはその一部分および／またはその一部が原料となる食品等の変色化防止や鮮度保持に有効である。一般に、メラニンは、肉・魚・野菜類等の生鮮食品の黒変、褐変現象や、愛玩動物や観賞用魚類等の黒変等によるくすみや色落ち現象の一因であることが知られているため、メラニンの生成を抑えることができれば、肉・魚・野菜類等の生鮮食品等や愛玩動物や観賞用動植物の商品価値を高めることが可能である。

#### 【0076】

本発明においてメラニン生成抑制効果の評価は、まず一次評価としては、B-16メラノーマ細胞の培養実験系を用いてそのメラニン生成抑制機能試験で評価比較した。また、二次評価として実際に調製した飼料等を用いて、メラニン生成抑制効果の有効性を評価した。一次評価である細胞評価で強力なメラニン生成抑制機能を有していた五環性トリテルペン類は、二次評価でも優れた効果を有しており、また2つの評価方法における効果の相関も同様であった。

#### 【0077】

B-16メラノーマ細胞はメラニン産生能を有する細胞であり、培養により自然に増殖した細胞は黒色化する。この増殖中に系内にメラニン生成を抑制する物質が存在すると、細胞の黒色化が抑えられ相対的に白色化する。よって、コントロールの場合の黒色化度に対する検体添加時の白色化度の程度から、メラニン生成抑制効果を比較することができる。この細胞培養系でのメラニン生成抑制効果の評価結果から、五環性トリテルペン類および／またはその生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体の有するメラニン生成抑制効果は非常に強いことが分かる。例えば、ビタミンCリン酸マグネシウム塩と比較すると、マスリン酸では約100～200倍、マスリン酸の塩では約100～200倍、エリトロジオールでは約10～100倍、ウバオールでは約30～120倍、ベツリン酸では約30～120倍、ベツリンでは約10～100倍、マスリン酸エチルエステルでは約100～200倍、アセチル化マスリン酸では約50～150倍、トリエチルシリル化マスリン酸では約30～120倍、ステアロイル化マスリン酸エチル

では約50～150倍、アセチル化エリトロジオールでは約10～100倍、アセチル化ウバオールでは約10～100倍、ベツリン酸エチルエステルでは約10～100倍、アセチル化ベツリンでは約5～50倍という、高いメラニン生成抑制効果を有している。

#### 【0078】

前述の通り、メラニンの生成を抑えることができれば、肉・魚・野菜類等の生鮮食品等の黒変、褐変を予防・改善することが可能である。この点において、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤は、使用する五環性トリテルペン類および／またはその生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体が強力なメラニン生成抑制効果を有するため、メラニン色素の生成を最小限に抑えることができることから、肉・魚・野菜類等の生鮮食品等の黒変、褐変を改善あるいは防止することができる。

メラニン生成抑制効果の二次評価としては、実際に調製した飼料等を用いて、その有効性を確認することができる。例えば、実際に、本発明における五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上を配合した飼料を調製し、動物試験を行うことによって評価できる。例えば、調製した飼料、および、通常の飼料を、マダイに投与し、その体色の黒変を色差計で測定し、体色黒変の抑制度合いを評価することで、その有効性を確認することができる。また、一般消費者が目にすることの多い、切り身の状態においても、メラニンの精製による魚肉内の黒い筋を測定すると、通常飼料を投与したマダイに比較して少なく、より天然のマダイに近い状態を示す。このような評価において、本発明における五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体は、コウジ酸等を配合した場合に比べても同等以上のメラニン生成抑制効果を有する。

さらに、魚介類の黒変や、野菜果物等の植物等、生鮮食品においても本発明における五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上を配合した組成物を溶解した処理液を調製し、対象物の処理後、黒変、褐変の度合いを比較することによっても評価できる。例えば、調製した処理液に黒変する魚介類としてエビ、褐変す

る食用植物体としてリンゴを浸漬した後、一定期間保存・放置したときの黒変、褐変の度合いを5段階で点数化し評価した場合、本発明組成物で処理したものは明らかに黒変、褐変の進行が少なく、その有効性を確認できる。このような評価においても、本発明における五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体は、優れたメラニン精製抑制効果を有する。

#### 【0079】

本発明の動植物用メラニン生成抑制剤は、上記五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上そのものからなるものでもよく、また上記五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上を有効成分とし、これらの有効成分と適当な希釈剤もしくは担体との組成物の形態であってもよい。このような希釈剤もしくは担体の例としては、例えばアラビアガム、キサンタンガム、デキストリン、シクロデキストリン、デンプン、グルコース、シュクロース、ラクトース、キシロース、ガラクトオリゴ糖、キシロオリゴ糖等の個体希釈剤もしくは担体；更に、例えば水、エタノール、プロピレングリコール、グリセリン、乳化剤等のごとき液体希釈剤もしくは担体を1種または2種以上配合した組成物とすることができる。乳化剤のうち親油性乳化剤として好適なものは、市販の各種グリセリン脂肪酸エステル、プロピレングリコール脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、ペンタエリストール脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンソルビット脂肪酸エステル、ポリオキシエチレングリコール脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンフェニルエーテル、ポリオキシエチレンヒマシ油、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油およびレシチン等が挙げられる。

#### 【0080】

親水性乳化剤として好適なものとしては、市販の各種アニオン系、非イオン系、カチオン系、両性系の種々の乳化剤を使用することができる。アニオン系乳化剤としては、例えば石鹼N-アシルアミノ酸塩、アルキルエーテルカルボン酸、アシル化ペプチド等のカルボン酸塩、アルキルスルホン酸塩、アルキルベンゼ

ンスルホン酸塩、アルキルナフタレンスルホン酸、およびそのホルマリン縮合物、ジアルキルスルホコハク酸エステル塩、 $\alpha$ -オレフィンスルホン酸塩、N-アシルメチルタウリン等のスルホン酸塩、硫酸化油、アルキル硫酸塩、アルキルエーテル硫酸塩、アルキルアリルエーテル硫酸塩、アルキルアミド硫酸塩のような硫酸エステル塩、アルキルリン酸塩、アルキルエーテルリン酸塩、アルキルアリルエーテルリン酸塩のようなリン酸エステル塩等が挙げられる。また非イオン系乳化剤としては、例えばポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレン2級アルコールエーテル、ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル、アルキルフェノールホルマリン縮合物の酸化エチレン誘導体、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロックポリマー等のエーテル型界面活性剤、ポリオキシエチレングリセリン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンヒマシ油および硬化ヒマシ油、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンソルビトール脂肪酸エステルのようなエーテルエステル型界面活性剤、ポリオキシエチレングリコール脂肪酸エステル、脂肪酸モノグリセリド、ソルビタン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステルのようなエステル型界面活性剤、脂肪酸アルカノールアミド、ポリオキシエチレン脂肪酸アミド、ポリオキシエチレンアルキルアミン、アルキルアミンオキサイドのような含窒素型界面活性剤等が挙げられる。カチオン系乳化剤としては、例えばアルキルアミン塩、4級アンモニウム塩、ベンザルコニウム塩、ピリジニウム塩等が挙げられ、さらに両性系乳化剤としては、例えばカルボキシベタイン型、アミノカルボン酸塩、イミダゾリニウムベタイン、レシチン等が挙げられる。

#### 【0081】

また、本発明は、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上を含有する動植物用メラニン抑制剤原料に関し、前記五環性トリテルペン類のうち、オレアナン系トリテルペン類、ウルサン系トリテルペン類、ルパン系トリテルペン類が好ましい。さらに、前記オレアナン系トリテルペン類についてはマスリン酸および／またはエリトロジオールが好ましく、特にマスリン酸である場合が好ましい。ウルサン系トリテルペン類については、ウルソール酸および／またはウバオー

ルである場合が好ましい。ルパン系トリテルペン類については、ベツリン酸および／またはベツリンである場合が好ましい。原料として使用する場合は、高濃度であることが好ましい。この場合、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる１種または２種以上の由来に、特に制限は無く、天然から得たものでも、人工的に得たものでも何れも好適に使用できるが、その目的がメラニン生成抑制である以上、その純度が高まったものほど好ましい。純度が高いことの利点としては、メラニン生成抑制効果を非常に向上させることができることに加え、不純物が除去されていること等が挙げられる。すなわち、不純物等による予測不能な副作用等の危険性を回避や、メラニン生成抑制剤製造時における予測不能なトラブルの回避、ハンドリングの向上といった、製品の品質等の向上に大きく寄与することができるため、純度が高まったものほど好ましい。また、単離精製処理により純度が高くなった場合、本発明における五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる１種または２種以上は、概ね白色あるいは無色の固体、半固体、液体等として得ることができるため、メラニン生成抑制剤に余計な色をつけることなく好適に配合することができる等のメリットがあり、好ましい。本発明のメラニン生成抑制剤原料における五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる１種または２種以上の純度は、上述の通り純度が高いものほど好ましいが、一概には規定されず、トリテルペン類の種類、使用の目的、投与形態、製法、製造コスト等を踏まえ、適宜決めればよい。したがって本発明は以下に限定されないが、例えば、０．１質量％以上、好ましくは０．１～９９．９９質量％、より好ましくは１～９９．９９質量％、さらに好ましくは１０～９９．９９質量％、さらに好ましくは３０～９９．９９質量％、さらに好ましくは５０～９９．９９質量％、さらに好ましくは７０～９９．９９質量％、さらに好ましくは９０～９９．９９質量％であれば良い。上記範囲内であれば、メラニン生成抑制剤を製造するために、または、飼料、肥料等に配合しても好適にメラニン生成抑制効果を発揮することができるため好ましい。

【００８２】

本発明の動植物用メラニン生成抑制剤を用いてメラニンの生成を抑制あるいは防止しようとする対象としては、動植物体および／またはその一部分および／またはその一部が原料となる食品等が挙げられ、例えば、マグロ、サケ、マス、タイ類等の魚介類、エビ類、カニ類、オキアミ等の甲殻類、タコ、イカ類等の軟体動物、ホタテ、アワビ、アカガイ等の貝類等、魚肉ソーセージ、蒲鉾、竹輪、魚の塩漬け、魚の干し物等の水産加工品、畜肉、ハム、ソーセージ等の畜産加工品、は、ニンジン、ピーマン、レタス、キャベツ、レンコン、ごぼう、ナス等の野菜類、カット野菜、干瓢、コンニャク粉、ポテト加工食品、甘納豆、煮豆等の野菜・穀類の生鮮・加工品、藻類、マッシュルーム等のキノコ類、リンゴ、モモ、ブドウ、オレンジ、バナナ等の果実類、カット果実、乾燥果実、果汁、果実酒等の果実生鮮・加工品等を挙げることができる。

#### 【0083】

さらに、これら動植物体はその利用目的が食用のみとは限らない場合も想定され、愛玩用、観賞用の動植物もしくはインテリアとして利用される動植物なども本発明の動植物用メラニン生成抑制剤の使用対象として挙げられ、例えば、イヌ、ネコ、ハムスター等の哺乳動物類、カメ、ヘビ、トカゲ、ワニ等の爬虫類、セキセイインコ、オウム、等の鳥類、カエル、イモリ等の両生類、エビ、カニ等の甲殻類、チョウチョウウオ、ニシキゴイ、ワキン等の魚類、貝類、ソフトコーラルやイソギンチャク等に代表される水棲無脊椎動物類、水草等の水棲植物類、冠水植物類、さらには、花卉類、芝類、観葉植物類、樹木等、鑑賞に用いられる植物体等が挙げられる。

#### 【0084】

本発明の動植物用メラニン生成抑制剤は、上述したように、生鮮食品、加工食品等や、愛玩用、観賞用の動植物等におけるメラニンの生成を抑制あるいは防止することが目的であるが、そのための使用方法は、対象の種類等により異なるので、一概には規定されない。したがって、本発明は以下に制限されるものではないが、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤の使用方法としては、例えば、以下のような場合が挙げられる。例えば、生命活動をしている動物体に対しては、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤を、飼料中に混合して摂取させたり、各種錠

剤、カプセル剤、散剤等のような形態で経口摂取させたりしてもよいし、各種注射剤、坐剤、外用液剤、軟膏剤等のような形態で非経口的に投与してもよく、特に魚介類に適用する場合には、成育水中に混入させ接触させたりしてもよい。これは、すなわち、対象の動物体が生きている間に、本発明における五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体を吸収させておくことにより、対象におけるメラニンの生成が抑制あるいは防止されることを意図している。また、例えば、生命活動を終了した動物体あるいは当該食品に対しては、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤を、直接添加、塗布、散布等してもよいし、その溶液を噴霧もしくは当該食品をその溶液中に浸漬させてもよい。また、例えば、育成段階植物体に対しては、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤を、肥料や栄養剤等の形態で投与、吸収させたり、注射等により直接注入させたり、塗布、散布等の形態で投与したりしてもよい。これも上述と同様、対象の植物体が育成段階の間に、本発明における五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体を吸収させておくことにより、対象におけるメラニンの生成が抑制あるいは防止されることを意図している。また、例えば、通常食する部分そのものやこれらの加工品等に対しては、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤を、直接添加、塗布、散布等してもよいし、その溶液を噴霧もしくは当該食品をその溶液中に浸漬させてもよい。実施例によりこの発明の効果をより明確なものとするが、本発明は特にこの実施例に限定されるものではない。

#### 【0085】

本発明の動植物用メラニン生成抑制剤は、上述した以外にも間接的に生鮮食品、加工食品、愛玩用、鑑賞用の動植物等さらにはヒトにおけるメラニンの生成を抑制あるいは防止することも期待できる。そのための使用方法については対象の種類等により異なるので一概には規定されない。したがって、本発明は以下に限定されるものではないが、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤の使用方法としては、例えば以下のような場合が挙げられる。例えば、生育途中の動物体に対しては本発明の動植物用メラニン生成抑制剤を経口あるいは注射等の方法により摂取させ、対象動物体にメラニン生成抑制成分を蓄積させた後、更にそれを別の動物



体もしくはヒトが摂取してもよい。さらに、これを肥料注に混入させるなどの方法により植物体に摂取させても良い。また、例えば、育成段階の植物体に対して、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤を、肥料や栄養剤等の形態で投与し、それを動物体、もしくはヒト、もしくは植物体が摂取、吸収してもよい。例えば、ヒトが摂取する場合、飲食物等の形態をとることもできる。これらは対象の動植物体が、成育中に本発明における五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体を吸収することによってメラニン生成抑制成分が高含有となる。そのため、これらを飲食物もしくはその原料として摂取することによって、ヒトにおけるメラニン生成が効果的に抑制あるいは防止される。同様に、これらを飼料あるいは肥料の形態で動植物に用いてもメラニンの生成が効果的に抑制される。

#### 【0086】

前記の生鮮食品、加工食品等や、愛玩用、観賞用の動植物等に対する本発明の動植物用メラニン生成抑制剤の使用量は、含有する五環性トリテルペン類の種類、対象の種類、使用量、使用の頻度、年齢、性別、体重、症状の程度等の条件により異なるので、一概に規定されないが、当然、メラニンの生成を抑制あるいは防止するに効果を有する量である。以下に限定されるものではないが、例えば、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上をそのみで使用した場合として、対象の重量に対して、直接投与では0.0001～50質量%、好ましくは0.001～30質量%、より好ましくは0.01～20質量%、さらに好ましくは0.1～10質量%、特に好ましくは0.1～5質量%であれば良く、浸漬などの間接投与では0.001～30質量%、好ましくは0.01～20質量%、より好ましくは0.1～10質量%の溶液として使用すれば良い。前記添加量未満ではメラニン生成抑制効果が弱く、また50質量%以上添加しても該添加量に見合うさらなる効果は望めず不経済である。

#### 【0087】

また特に、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤は、そのメラニン生成抑制効果を目的として、各種飼料の形態で使用する事ができる。すなわち、本発明は

、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上を有効成分とする動植物用メラニン生成抑制剤原料を含有する肥料に関し、前記五環性トリテルペン類のうち、オレアナン系トリテルペン類、ウルサン系トリテルペン類、ルパン系トリテルペン類が好ましい。さらに、前記オレアナン系トリテルペン類についてはマスリン酸および／またはエリトロジオールが好ましく、特にマスリン酸である場合が好ましい。ウルサン系トリテルペン類については、ウルソール酸および／またはウバオールである場合が好ましい。ルパン系トリテルペン類については、ベツリン酸および／またはベツリンである場合が好ましい。上記飼料としては、以下に限定されるものではないが、例えば、牛、豚、馬、兎等の家畜用飼料、鶏、七面鳥、うずら等の家禽用飼料、ブリ、ヒラメ、トラフグ、アユ、サケマス類、チョウチョウウオ類、ワキン等の海産あるいは淡水養殖魚類、海産あるいは淡水観賞用魚類、エビ、カニ、アワビ、サザエ、スッポン、カメ、カエル等の養殖用、観賞用、愛玩用の甲殻類、両生類、貝類等の魚介用飼料、犬、猫、猿等の愛玩動物飼育用ペットフード、昆虫用飼料、動物園用飼料のほか、動物用治療食品等が挙げられる。これらは、粉末状、液状、ゲル状、ドライフード、セミモイストフード、缶詰フード、錠菓子、錠剤等、用途によっていかなる形態をも取りうる。また、飼料への添加もしくは混合する方法については、以下に限定されるものではないが、例えば、飼料組成物として添加するほか、飼料への粉体、液体を用いて混合、噴霧により添着する方法のほか、上記形態の飼料を他飼料に混合する方法や、添加剤として飼料に加える方法等が挙げられる。

本発明の飼料における該動植物用メラニン生成抑制剤の含量は、含有する五環性トリテルペン類の種類、使用形態、使用目的、使用量、使用頻度、対象の種、性別、体重、メラニン生成の度合い等によって適宜調整すれば良いため、一概には規定できず、本発明は以下に限定されるものではないが、例えば、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上をそのみで使用した場合として、対象の質量に対して、直接投与では 0.00001～50 質量%、好ましくは 0.0001～30 質量%、より好ましくは 0.001～20 質量%、さらに好ましくは 0

． 01～10質量%、特に好ましくは0.1～5質量%であれば良く、また浸漬などの間接投与では0.001～30質量%、好ましくは0.01～20質量%、より好ましくは0.1～10質量%の溶液として使用すれば良い。

#### 【0088】

また特に、本発明の動植物用メラニン生成抑制剤は、そのメラニン生成抑制効果を目的として、各種肥料の形態で使うことができる。すなわち、本発明は、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上を有効成分とする動植物用メラニン生成抑制剤原料を含有する肥料に関し、前記五環性トリテルペン類のうち、オレアナン系トリテルペン類、ウルサン系トリテルペン類、ルパン系トリテルペン類が好ましい。さらに、前記オレアナン系トリテルペン類についてはマスリン酸および／またはエリトロジオールが好ましく、特にマスリン酸である場合が好ましい。ウルサン系トリテルペン類については、ウルソール酸および／またはウバオールである場合が好ましい。ルパン系トリテルペン類については、ベツリン酸および／またはベツリンである場合が好ましい。上記肥料としては、以下に限定されるものではないが、土壌混合用のものや、土壌灌注用のもの、あるいは葉面散布、塗布を行うもの、さらには水耕栽培、組織培養用の培養液のほか、種子、株等への処理を行うもの等が挙げられる。またその適用植物としては以下に限定されるものではないが、例えば、イネ、コムギ等の穀物類、キャベツ、レタス、ホウレンソウ等の葉菜類、ゴボウ、カブ、ダイコン、ニンジン等の根菜類、トマト、イチゴ等の果菜類、リンゴ、ナシ、ブドウ、モモ等の果樹類、パンジー、ユリ等の花卉類、コウライシバ、ベントシバ等の芝類、さらにはゴム、ドラセナ、アジアンタム等の観賞用植物等が挙げられる。

本発明の肥料における該動植物用メラニン生成抑制剤の含量は、含有する五環性トリテルペン類の種類、使用形態、使用目的、使用量、使用頻度、対象の種、重量、メラニン生成の度合い等によって適宜調整すれば良いため、一概には規定できず、本発明は以下に限定されるものではないが、例えば、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上をそのみで使用した場合として、土壌混合や土壌

灌注の場合、使用する土壌の質量に対して、0.0001～30質量%、好ましくは0.001～20質量%、より好ましくは0.01～15質量%、さらに好ましくは0.1～10質量%、特に好ましくは0.1～5質量%であれば良く、培養液の場合、液の質量に対して、0.001～20質量%、好ましくは0.01～10質量%、より好ましくは0.1～5質量%の溶液として使用すれば良い。

#### 【0089】

また、本発明は、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上を含有する黒変・褐変防止組成物に関し、好ましくは、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上と、酸化防止剤、有機酸および同塩類、リン酸および同塩類からなる群より選ばれる1種または2種以上とを含有することを特徴とする食品用黒変・褐変防止組成物に関する。前述の通り、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体は優れたメラニン生成抑制効果を有しているが、さらに、酸化防止剤、有機酸および同塩類、リン酸および同塩類からなる群より選ばれる1種または2種以上とを同時に使用することで、効果的に黒変・褐変を抑制あるいは防止することができる。

#### 【0090】

本発明において、酸化防止剤とは、酸化現象による食品の変質を防止するものを示し、好ましくは酸化による食品の黒変・褐変を抑制あるいは防止することのできるものを示す。本発明において使用する酸化防止剤としては、通常飲食物あるいは飼料に使用されているものであれば特に制限はないが、好ましくは、ビタミンC及びその誘導体並びにそれらの塩、トコフェロールやトコトリエノール及びその誘導体、ジブチルヒドロキシトルエン、ブチルヒドロキシアニソール、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム、エチレンジアミン四酢酸カルシウム二ナトリウム、没食子酸やエラグ酸等のタンニン類及びそれらの誘導体、亜硫酸ナトリウムや次亜硫酸ナトリウムや二硫化硫黄等の硫酸系化合物、 $\gamma$ -オリザノール、ルチンおよびその誘導体、セサモリンやセサモール等のリグナン類、 $\beta$ -カロチ

ン等のカロテノイド類及びその誘導体、フラボン、カテキン、ケルセチン、イソケルセチン、ロイコアントシアニン、ゲニスチン、ゲニステイン、6“-O-アセチルゲニスチン、6“-O-マロニルゲニスチン、ダイズイン、ダイゼイン、6“-O-アセチルダイズイン、6“-O-マロニルダイズイン、グリシチン、グリシテイン、6“-O-アセチルグリシチン、6“-O-マロニルグリシチン、プエラリン、ケルセチン、ケンフェロー、ミロエステロール等のフラボノイド類、ユビキノンやビタミンK等のキノン類、スーパーオキシドディスムターゼ、カタラーゼ、グルタチオンペルオキシダーゼ等の酵素類、アオイ花抽出物、アスペルギルステレウス抽出物、甘草油性抽出物、グローブ抽出物、グアヤク脂、生コーヒー豆抽出物、米ぬか油抽出物、カンナ抽出物、セージ抽出物、セリ抽出物、テンペ抽出物、菜種油抽出物、ピメンタ抽出物、ブルーベリー抽出物、プロポリス抽出物、ペパー抽出物、メラロイカ製油、ユーカリ抽出物、リンドウ抽出物、ソバ抽出物、アズキ抽出物、ローズマリー抽出物、オリーブ粕抽出物や大豆粕抽出物等の油粕抽出物、大豆胚芽抽出物、チアミン類及びその塩、リボフラビン、酢酸リボフラビン等のリボフラビン類、塩酸ピリドキシン、ピリドキシンジオクタノエート等のピリドキシン類、ニコチン酸アミド、ニコチン酸ベンジル等のニコチン酸類、ビリルビン、マンニトール、トリプトファン、ヒスチジン、ノルジヒドログアイアレチン酸等が挙げられる。

#### 【0091】

本発明において使用する有機酸および同塩類としては、例えば、クエン酸およびその塩類、コハク酸およびその塩類、乳酸およびその塩類、酒石酸およびその塩類等が挙げられる。

#### 【0092】

本発明において使用するリン酸および同塩類としては、例えば、リン酸、リン酸二水素ナトリウム、リン酸水素二ナトリウム、リン酸三ナトリウム、リン酸二水素カリウム、リン酸水素二カリウム、リン酸三カリウム等が挙げられる。

#### 【0093】

上記各成分は使用目的によって適宜設計、配合することができる。吸収性や作用効果の種類によってメラニン生成抑制あるいは黒変防止あるいは褐変防止効果

を相乗、補完することや使用形態として好ましい態様とすることができる。また、例えばイソフラボン類およびその誘導体は水溶性に優れ、概して油溶性物質である本発明における五環性トリテルペン類と同時に生体に作用させることで、チロシナーゼ阻害効果を含め、水および脂質媒介性の様々な代謝経路を経た、同時作用による効果が発揮され、その効果は相乗的になることが期待できる。さらには、当該発明における五環性トリテルペン類とイソフラボノイド等を同時に配合した動植物用メラニン生成抑制剤、飼料、肥料等はイソフラボノイドの抗酸化性やエストロゲン様作用等の生理活性が同時にかつ相乗的に活性化されることが期待できる。

#### 【0094】

ここで、本発明の黒変・褐変防止組成物における五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上の含量は、含有する五環性トリテルペン類の種類、使用形態、使用目的、使用量、使用頻度、メラニン生成の度合い等によって適宜調整すれば良いため、一概には規定できず、本発明は以下に限定されるものではないが、例えば、0.00001質量%以上、好ましくは0.00001～99.99質量%、より好ましくは0.0001～99.99質量%、さらに好ましくは0.0005～99.99質量%、さらに好ましくは0.001～99.99質量%、さらに好ましくは0.005～99.99質量%、さらに好ましくは0.01～99.99質量%、さらに好ましくは0.05～99.99質量%、さらに好ましくは0.1～99.99質量%、さらに好ましくは0.5～99.99質量%、さらに好ましくは1～99.99質量%である。同様に、本発明の黒変・褐変防止組成物における酸化防止剤、有機酸および同塩類、リン酸および同塩類からなる群より選ばれる1種または2種以上の含量は、含有する酸化防止剤等の種類、使用形態、使用目的、使用量、使用頻度、メラニン生成の度合い等によって適宜調整すれば良いため、一概には規定できず、本発明は以下に限定されるものではないが、例えば、0.0001～95質量%、好ましくは0.001～90質量%、より好ましくは0.01～80質量%、さらに好ましくは0.05～70質量%、さらに好ましくは0.1～60質量%、さらに好ましくは0.5～50

質量%質量%である。また、該五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上と、酸化防止剤、有機酸および同塩類、リン酸および同塩類からなる群より選ばれる1種または2種以上との含有比率は、使用する酸化防止剤、有機酸および同塩類、リン酸および同塩類の種類、目的とする相乗効果、使用形態、使用目的、使用量、使用頻度、メラニン生成の度合い等によって適宜調整すれば良いため、一概には規定できず、本発明は以下に限定されるものではないが、例えば、含有される五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる1種または2種以上の質量を1とした場合に、酸化防止剤、有機酸および同塩類、リン酸および同塩類からなる群より選ばれる1種または2種以上の質量比が、0.001~1000、好ましくは0.005~500、より好ましくは、0.01~100、さらに好ましくは0.05~50、特に好ましくは0.1~20であれば良い。この比率未満では黒変・褐変防止効果について相乗効果が殆ど認められず、またこの比率以上では添加量に見合うさらなる効果は望めず不経済である。

#### 【0095】

本発明の黒変・褐変防止組成物を用いて黒変および／または褐変を抑制あるいは防止しようとする対象としては、動植物体および／またはその一部分および／またはその一部が原料となる食品等が挙げられ、例えば、マグロ、サケ、マス、タイ類等の魚介類、エビ類、カニ類、オキアミ等の甲殻類、タコ、イカ類等の軟体動物、ホタテ、アワビ、アカガイ等の貝類等、魚肉ソーセージ、蒲鉾、竹輪、魚の塩漬け、魚の干し物等の水産加工品、畜肉、ハム、ソーセージ等の畜産加工品、は、ニンジン、ピーマン、レタス、キャベツ、レンコン、ごぼう、ナス等の野菜類、カット野菜、干瓢、コンニャク粉、ポテト加工食品、甘納豆、煮豆等の野菜・穀類の生鮮・加工品、藻類、マッシュルーム等のキノコ類、リンゴ、モモ、ブドウ、オレンジ、バナナ等の果実類、カット果実、乾燥果実、果汁、果実酒等の果実生鮮・加工品等を挙げることができる。

#### 【0096】

さらに、これら動植物体はその利用目的が食用のみとは限らない場合も想定さ

れ、愛玩用、観賞用の動植物もしくはインテリアとして利用される動植物なども本発明の動植物用メラニン生成抑制剤の使用対象として挙げられ、例えば、イヌ、ネコ、ハムスター等の哺乳動物類、カメ、ヘビ、トカゲ、ワニ等の爬虫類、セキセイインコ、オウム、等の鳥類、カエル、イモリ等の両生類、エビ、カニ等の甲殻類、チョウチョウウオ、ニシキゴイ、ワキン等の魚類、貝類、ソフトコーラルやイソギンチャク等に代表される水棲無脊椎動物類、水草等の水棲植物類、冠水植物類、さらには、花卉類、芝類、観葉植物類、樹木等、鑑賞に用いられる植物体等が挙げられる。

#### 【0097】

本発明の黒変・褐変防止組成物は、上述したように、生鮮食品、加工食品等や、愛玩用、観賞用の動植物等における黒変および／または褐変を抑制あるいは防止することが目的であるが、そのための方法は、対象の種類等により異なるので、一概には規定されない。したがって、本発明は以下に制限されるものではないが、本発明の黒変・褐変防止組成物の使用方法としては、例えば、以下のような場合が挙げられる。例えば、生命活動をしている動物体に対しては、本発明の黒変・褐変防止組成物を、飼料中に混合して摂取させたり、各種錠剤、カプセル剤、散剤等のような形態で経口摂取させたりしてもよいし、各種注射剤、坐剤、外用液剤、軟膏剤等のような形態で非経口的に投与してもよく、特に魚介類に適用する場合には、成育水中に混入させ接触させたりしてもよい。これは、すなわち、対象の動物体が生きている間に、本発明における五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体を吸収させておくことにより、対象における黒変および／または褐変が抑制あるいは防止されることを意図している。また、例えば、生命活動を終了した動物体あるいは当該食品に対しては、本発明の黒変・褐変防止組成物を、直接添加、塗布、散布等しても良いし、その溶液を噴霧もしくは当該食品をその溶液中に浸漬させてもよい。また、例えば、育成段階植物体に対しては、本発明の黒変・褐変防止組成物を、肥料や栄養剤等の形態で投与、吸収させたり、注射等により直接注入させたり、塗布、散布等の形態で投与したりしてもよい。これも上述と同様、対象の植物体が育成段階の間に、本発明における五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容され



る塩またはそれらの誘導体を吸収させておくことにより、対象における黒変および／または褐変が抑制あるいは防止されることを意図している。また、例えば、通常食する部分そのものやこれらの加工品等に対しては、本発明の黒変・褐変防止組成物を、直接添加、塗布、散布等しても良いし、その溶液を噴霧もしくは当該食品をその溶液中に浸漬させてもよい。実施例によりこの発明の効果をより明確なものとするが、本発明は特にこの実施例に限定されるものではない。

#### 【0098】

本発明の動植物用黒変・褐変防止組成物は、上述した以外にも間接的に生鮮食品、加工食品、愛玩用、鑑賞用の動植物等さらにはヒトにおける黒変および／または褐変を抑制あるいは防止することも期待できる。そのための使用方法については対象の種類等により異なるので一概には規定されない。したがって、本発明は以下に限定されるものではないが、本発明の動植物用黒変・褐変防止組成物の使用方法としては、例えば以下のような場合が挙げられる。例えば、生育途中の動物体に対しては本発明の動植物用黒変および／または褐変防止組成物を経口あるいは注射等の方法により摂取させ、対象動物体にメラニン生成抑制成分を蓄積させた後、更にそれを別の動物体もしくはヒトが摂取してもよい。さらに、これを肥料注に混入させるなどの方法により植物体に摂取させても良い。また、例えば、育成段階の植物体に対して、本発明の動植物用黒変・褐変防止組成物を、肥料や栄養剤等の形態で投与し、それを動物体、もしくはヒト、もしくは植物体が摂取、吸収してもよい。例えば、ヒトが摂取する場合、飲食物等の形態をとることもできる。これらは対象の動植物体が、成育中に本発明における五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩またはそれらの誘導体を吸収することによって黒変・褐変防止成分が高含有となる。そのため、これらを飲食物もしくはその原料として摂取することによって、ヒトにおけるメラニン生成が効果的に抑制あるいは防止される。同様に、これらを飼料あるいは肥料の形態で動植物に用いても黒変および／または褐変が効果的に抑制される。

#### 【0099】

ここで、本発明の黒変・褐変防止組成物は、その黒変・褐変防止効果を目的として、各種飼料の形態で 사용할ことができる。すなわち、本発明は、該黒変・

褐変防止組成物を含有する飼料に関する。上記飼料としては、以下に限定されるものではないが、例えば、牛、豚、馬、兎等の家畜用飼料、鶏、七面鳥、うずら等の家禽用飼料、ブリ、ヒラメ、トラフグ、アユ、サケマス類、チョウチョウウオ類、ワキン等の海産あるいは淡水養殖魚類、海産あるいは淡水観賞用魚類、エビ、カニ、アワビ、サザエ、スッポン、カメ、カエル等の養殖用、観賞用、愛玩用の甲殻類、両生類、貝類等の魚介用飼料、犬、猫、猿等の愛玩動物飼育用ペットフード、昆虫用飼料、動物園用飼料のほか、動物用治療食品等が挙げられる。これらは、粉末状、液状、ゲル状、ドライフード、セミモイストフード、缶詰フード、錠菓子、錠剤等、用途によっていかなる形態をも取りうる。

また、飼料への添加もしくは混合する方法については、以下に限定されるものではないが、例えば、飼料組成物として添加するほか、飼料への粉体、液体を用いて混合、噴霧により添着する方法のほか、上記形態の飼料を他飼料に混合する方法や、添加剤として飼料に加える方法等が挙げられる。

本発明の飼料における該黒変・褐変防止組成物の含量は、含有する五環性トリテルペン類や酸化防止剤等の種類、使用形態、使用目的、使用量、使用頻度、対象の種、性別、体重、メラニン生成の度合い等によって適宜調整すれば良いため、一概には規定できず、本発明は以下に限定されるものではないが、例えば、対象の質量に対して、直接投与では0.00001～50質量%、好ましくは0.0001～30質量%、より好ましくは0.001～20質量%、さらに好ましくは0.01～10質量%、特に好ましくは0.1～5質量%であれば良く、また浸漬などの間接投与では0.001～30質量%、好ましくは0.01～20質量%、より好ましくは0.1～10質量%の溶液として使用すれば良い。

#### 【0100】

ここで、本発明の黒変・褐変防止組成物は、その黒変・褐変防止効果を目的として、各種肥料の形態で使用する事ができる。すなわち、本発明は、該黒変・褐変防止組成物を含有する肥料に関する。上記肥料としては、以下に限定されるものではないが、土壌混合用のものや、土壌灌注用のもの、あるいは葉面散布、塗布を行うもの、さらには水耕栽培、組織培養用の培養液のほか、種子、株等への処理を行うもの等が挙げられる。またその適用植物としては以下に限定される

ものではないが、例えば、イネ、コムギ等の穀物類、キャベツ、レタス、ホウレンソウ等の葉菜類、ゴボウ、カブ、ダイコン、ニンジン等の根菜類、トマト、イチゴ等の果菜類、リンゴ、ナシ、ブドウ、モモ等の果樹類、パンジー、ユリ等の花卉類、コウライシバ、ベントシバ等の芝類、さらにはゴム、ドラセナ、アジアンタム等の観賞用植物等が挙げられる。

本発明の肥料における該黒変・褐変防止組成物の含量は、含有する五環性トリテルペン類や酸化防止剤等の種類、使用形態、使用目的、使用量、使用頻度、対象の種、重量、メラニン生成の度合い等によって適宜調整すれば良いため、一概には規定できず、本発明は以下に限定されるものではないが、例えば、土壌混合や土壌灌注の場合、使用する土壌の質量に対して、0.0001～30質量%、好ましくは0.001～20質量%、より好ましくは0.01～15質量%、さらに好ましくは0.1～10質量%、特に好ましくは0.1～5質量%であれば良く、培養液の場合、液の質量に対して、0.001～20質量%、好ましくは0.01～10質量%、より好ましくは0.1～5質量%の溶液として使用すれば良い。

#### 【0101】

本発明における五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体は、非常に優れたメラニン生成抑制効果を有するため、これらを動植物に適用することで、非常に好適な効果をもたらす。すなわち、愛玩用、観賞用の動植物等や、生鮮食品、加工食品等における黒変・褐変を抑制あるいは防止することで、これらの商品価値を大幅に向上させることができる。さらにこれらは、酸化防止剤、有機酸および同塩類、リン酸および同塩類等と組み合わせて使用することで、非常に優れた相乗効果を発揮することができ、これまで酸化防止剤、有機酸および同塩類、リン酸および同塩類等を単独で使用していた場合に比べ、効果、使用量の低減、コスト等の面で非常に好ましい。

#### 【0102】

##### 【実施例】

以下に、本発明についての実施例を示すが、本発明はこれに限定されるものではない。以下、単に質量%を単に%と示すことがある。

## 【0103】

実施例に使用した五環性トリテルペンとして、エリトロジオール（フナコシ社製）、ウルソール酸（和光純薬社製）、ウバオール（フナコシ社製）、ベツリン酸（フナコシ社製）、ベツリン（フナコシ社製）については、試薬として購入した。HPLCグレードのものはそのまま用い、そうでないものは、沸点まで加熱したエタノールに飽和になるまで溶解した後、冷却して再結晶させたものを濾過、乾固して用いた。マスリン酸については、以下に実例を挙げて説明するが、オリーブ植物から抽出、精製し、純度95%であることを確認したものを用いた。

## 【0104】

## &lt;製造例1&gt;

国内産のオリーブ（*Olea europaea* L.）の乾燥果実（種子を含む）500gを破碎し、3Lのヘキサンを加え3時間抽出した。これを4度繰り返した脱脂果実について、種子を除去した後、粉碎し、再度5倍量のヘキサンで3時間抽出することで、完全に油分を除去した脱脂粕229gを得た。この脱脂粕に10倍量のエタノール含量が60質量%の含水エタノール水溶液を加え、室温で激しく攪拌しながら3時間抽出した。全量をろ過後、ろ液を濃縮乾固して抽出物112.7gを得た。

この抽出物100gに、水2Lを加え、室温で1時間、激しく攪拌した。全量を遠心分離で処理した後、上澄みはデカンテーションにより除去し、残った沈殿を乾燥して濃縮物10.0gを得た。

次にこの濃縮物を、約40倍量（400g）のシリカゲルを充填したカラムを用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分画した。まず、充填したゲルの10倍量（4000mL）のヘキサン：酢酸エチル＝3：1の溶離液で雑多な不要分を溶出させた後、さらに2.5倍量（1000mL）のヘキサン：酢酸エチル＝1：1の溶離液で雑多な不要分を溶出させた。続いて充填したゲルの10倍量（4000mL）のヘキサン：酢酸エチル＝1：1の溶離液で目的とするマスリン酸を溶出させて、粗マスリン酸分画を得た。この分画からヘキサンおよび酢酸エチルを除去後、真空乾燥し粗マスリン酸分画物を1.96g得た。

さらにこの粗マスリン酸分画物を、約30倍量（60g）のオクタデシルシリ

カゲルを充填したカラムを用いたODSカラムクロマトグラフィーで精製した。まず、充填したゲルの10倍量(600 mL)のメタノール：水=8：2の溶離液で雑多な不要分を溶出させた。続いて充填したゲルの30倍量(1800 mL)のメタノール：水=8：2の溶離液で目的とするマスリン酸を溶出させて、精製マスリン酸画分を得た。この画分からメタノールを除去後、真空乾燥し精製マスリン酸1を1.51 g得た。

ここで、NMR、MS等の解析から、この精製マスリン酸1は、その一部がナトリウム塩およびカリウム塩の状態、残りの大部分が遊離酸の状態であることを確認した。また、これらの純度をGCで測定し、マスリン酸としての純度が95%以上であることを確認した。

#### 【0105】

##### <製造例2>

イタリア産のオリーブ(*Olea europaea* L.)を搾油し得られた搾油残渣1 kgに、10倍量のエタノール含量が65質量%の含水エタノール水溶液を加え、室温で激しく攪拌しながら3時間抽出した。全量をろ過後、ろ液を濃縮乾固し抽出物を20.2 g得た。

この抽出物に、n-ブタノール1 L、水1 Lを加えて10分間攪拌した後、n-ブタノール相と水相に分けた。n-ブタノール相のn-ブタノールを除去後、真空乾燥し濃縮物を13.3 g得た。

次にこの濃縮物を、約40倍量(500 g)のシリカゲルを充填したカラムを用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分画した。まず、充填したシリカゲルの10倍量(5000 mL)のヘキサン：酢酸エチル=3：1の溶離液で雑多な不要分を溶出させた後、さらに2.5倍量(1250 mL)のヘキサン：酢酸エチル=1：1の溶離液で雑多な不要分を溶出させた。続いて充填したシリカゲルの10倍量(5000 mL)のヘキサン：酢酸エチル=1：1の溶離液で目的とするマスリン酸を溶出させて、粗マスリン酸画分を得た。この画分からヘキサンおよび酢酸エチルを除去後、真空乾燥し粗マスリン酸分画物を2.66 g得た。

さらにこの粗マスリン酸分画物を、約30倍量(80 g)のオクタデシルシリ

カゲルを充填したカラムを用いたODSカラムクロマトグラフィーで精製した。まず、充填したゲルの10倍量(800 mL)のメタノール：水=8：2の溶離液で雑多な不要分を溶出させた。続いて充填したゲルの30倍量(2400 mL)のメタノール：水=8：2の溶離液で目的とするマスリン酸を溶出させて、精製マスリン酸画分を得た。この画分からメタノールを除去後、真空乾燥し精製マスリン酸2を2.06 g得た。

ここで、NMR、MS等の解析から、この精製マスリン酸2は、その一部が遊離酸の状態で、残りの大部分がナトリウムやカリウム等の塩の状態であることを確認した。また、これらの純度をGCで測定し、マスリン酸としての純度が97%以上であることを確認した。

#### 【0106】

五環性トリテルペン類の誘導体としては、以下のようにして得た。

#### 【0107】

##### <合成例1> マスリン酸エチル

マスリン酸4.5 gとトリエチルアミン1.0 gをクロロホルム50 mLに溶解し、塩化チオニル1.1 gをクロロホルム10 mLに溶解したものを、氷冷下、滴下しながら、1時間攪拌した。続いて、エタノール3.2 gを加え、トリエチルアミン1.0 gをクロロホルム10 mLに溶解したものを氷冷下、滴下しながら、3時間攪拌した。反応終了後、クロロホルム溶解分を抽出し、クロロホルムを溜去して得た粗反応物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、マスリン酸エチルエステルを3.5 g得た。

#### 【0108】

##### <合成例2> 2,3-オージアセチルマスリン酸

マスリン酸2.0 gをピリジン100 mLに溶解し、無水酢酸50 mLを加え、一晩攪拌した。ピリジン及び無水酢酸を溜去した後、残留物をエーテルに溶かし、このエーテル相を1N塩酸水溶液で一回、飽和炭酸水素ナトリウム溶液で一回、純水で3回洗浄した後、硫酸マグネシウムを加えて一晩放置した。濾過により硫酸マグネシウムを除去し、エーテルを溜去して得た粗反応物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、2,3-オージアセチルマスリン酸

を 2.2 g 得た。

【0109】

＜合成例 3＞ 2, 3-*O*-ジトリエチルシリルーマスリン酸トリエチルシリルエステル

マスリン酸 1.0 g を無水ジメチルフォルムアミド 200 mL に溶解し、イミダゾール 144.0 mg およびトリエチルシリルクロライド 350  $\mu$ L を 0℃ で加え、密栓して 2 時間攪拌した。ジメチルフォルムアミドを溜去した後、残留物をエーテルに溶かし、このエーテル相を 1 N 塩酸水溶液で一回、飽和炭酸水素ナトリウム溶液で一回、純水で 3 回洗浄した後、硫酸マグネシウムを加えて一晩放置した。濾過により硫酸マグネシウムを除去し、エーテルを溜去して得た粗反応物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、2, 3-*O*-ジトリエチルシリルーマスリン酸トリエチルシリルエステルを 1.5 g 得た。

【0110】

＜合成例 4＞ 2, 3-*O*-ジーステアロイルーマスリン酸エチル

合成例 1 で得たマスリン酸エチル 1.0 g を無水トルエン 50 mL に溶解し、トリエチルアミン 5.0 g を加え、さらにステアリン酸クロライド 6.0 g を氷冷下で徐々に添加しながら、1 時間攪拌し、徐々に室温に戻しながら 9 時間攪拌した。1 N 塩酸水溶液を適量加え、エーテルで抽出し、エーテル相はさらに飽和炭酸水素ナトリウム溶液で一回、純水で 3 回洗浄した後、硫酸マグネシウムを加えて一晩放置した。濾過により硫酸マグネシウムを除去し、エーテルを溜去して得た粗反応物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、2, 3-*O*-ジーステアロイルーマスリン酸エチルを 1.2 g 得た。

【0111】

＜合成例 5＞ 3, 28-*O*-ジアセチルーエリトロジオール

エリトロジオール 5.0 g をピリジン 250 mL に溶解し、無水酢酸 100 mL を加え、一晩攪拌した。ピリジン及び無水酢酸を溜去した後、残留物をエーテルに溶かし、このエーテル相を 1 N 塩酸水溶液で一回、飽和炭酸水素ナトリウム溶液で一回、純水で 3 回洗浄した後、硫酸マグネシウムを加えて一晩放置した。濾過により硫酸マグネシウムを除去し、エーテルを溜去して得た粗反応物を、シ

リカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、3, 28-オージアセチル-エリトロジオールを5.4 g得た。

#### 【0112】

##### <合成例6> ウルソール酸エチル

ウルソール酸5.0 gとトリエチルアミン1.1 gをクロロホルム50 mLに溶解し、塩化チオニル1.2 gをクロロホルム10 mLに溶解したものを、氷冷下、滴下しながら、1時間攪拌した。続いて、エタノール3.5 gを加え、トリエチルアミン1.1 gをクロロホルム10 mLに溶解したものを氷冷下、滴下しながら、3時間攪拌した。反応終了後、クロロホルム溶解分を抽出し、クロロホルムを溜去して得た粗反応物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、ウルソール酸エチルエステルを3.8 g得た。

#### 【0113】

##### <合成例7> 3, 28-オージアセチル-ウバオール

ウバオール5.0 gをピリジン250 mLに溶解し、無水酢酸100 mLを加え、一晩攪拌した。ピリジン及び無水酢酸を溜去した後、残留物をエーテルに溶かし、このエーテル相を1 N塩酸水溶液で一回、飽和炭酸水素ナトリウム溶液で一回、純水で3回洗浄した後、硫酸マグネシウムを加えて一晩放置した。濾過により硫酸マグネシウムを除去し、エーテルを溜去して得た粗反応物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、3, 28-オージアセチル-ウバオールを5.4 g得た。

#### 【0114】

##### <合成例8> ベツリン酸エチル

ベツリン酸5.0 gとトリエチルアミン1.1 gをクロロホルム50 mLに溶解し、塩化チオニル1.2 gをクロロホルム10 mLに溶解したものを、氷冷下、滴下しながら、1時間攪拌した。続いて、エタノール3.5 gを加え、トリエチルアミン1.1 gをクロロホルム10 mLに溶解したものを氷冷下、滴下しながら、3時間攪拌した。反応終了後、クロロホルム溶解分を抽出し、クロロホルムを溜去して得た粗反応物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、ベツリン酸エチルエステルを3.8 g得た。



## 【0115】

## &lt;合成例9&gt;

3, 28-オージアセチルーベツリン

ベツリン 5.0 g をピリジン 250 mL に溶解し、無水酢酸 100 mL を加え、一晩攪拌した。ピリジン及び無水酢酸を溜去した後、残留物をエーテルに溶かし、このエーテル相を 1 N 塩酸水溶液で一回、飽和炭酸水素ナトリウム溶液で一回、純水で 3 回洗浄した後、硫酸マグネシウムを加えて一晩放置した。濾過により硫酸マグネシウムを除去し、エーテルを溜去して得た粗反応物を、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、3, 28-オージアセチルーベツリンを 5.4 g 得た。

## 【0116】

## 実施例 1

## &lt;メラニン生成抑制効果の評価&gt;

6 穴プレートに培地を 2 mL / well 取り、B-16 メラノーマ細胞を所定量播種し、37℃、二酸化炭素濃度 5 % にて静置、培養する。翌日、所定濃度になるように検体試料（五環性トリテルペン類）調製液を添加混和し、培養を継続する。培養 5 日目に培地を交換し、再度検体試料調製液を添加する。翌日、培地を除き、細胞を回収し PBS（リン酸緩衝生理食塩水）で洗浄後、細胞の白色化度により評価した。なお、メラニン生成抑制効果の評価は、検体試料調製液の代わりに、既にその効果が分かっているビタミン C リン酸マグネシウムを 450 ppm（ポジティブコントロール）添加時の白色化度、および、検体試料無添加時（コントロール）での白色化度と比較して、以下の基準で評価した。

細胞の白色化度の評価基準は、以下に示す通りである。

## 【0117】

## （評価基準）

## &lt;評価&gt;      &lt;内      容&gt;

- |    |                               |
|----|-------------------------------|
| ++ | ポジティブコントロールより白くなった            |
| +  | ポジティブコントロールと同程度に白くなった         |
| ±  | ポジティブコントロール程ではないが、コントロールより白くな |

った

ー コントロールと同程度

【0118】

上記方法によってメラニン生成抑制機能を評価した。その結果を表1に示す

【0119】

【表1】

<メラニン生成抑制効果評価結果>

		濃度 (ppm)											
		2	4	6	8	10	15	25	50	100	200	300	450
本発明品	精製マスリン酸1	±	+	++	++	++							
	精製マスリン酸2	±	+	++	++	++							
	エリトジオール	±		±		±		+	+				
	ウルソール酸	±	+	++	++	++							
	ウバオール	—		—		+		+	+				
	ベツリン酸	—		±		+		+	+				
	ベツリン	—		±		±		+	+				
	合成例1の化合物	±	+	++	++	++							
	合成例2の化合物	±	±	+	++	++	++						
	合成例3の化合物	—		±		+		+	+				
	合成例4の化合物	±	±	+	++	++	++						
	合成例5の化合物	—		±		±		+	+				
	合成例6の化合物	±	+	++	++	++							
	合成例7の化合物	—		—		±		+	+				
	合成例8の化合物	—		±		±		+	+				
	合成例9の化合物	—		—		±		±	+				
比較品	コウジ酸					—	—	—	±	±	+	++	++

※ 基準はビタミンCリン酸マグネシウム塩 450 ppm 添加時の白色化度

【0120】

表1から、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体のメラニン生成抑制機能を、ポジティブコントロールである添加濃度 450 ppm のビタミンCリン酸マグネシウムの場合とそれぞれ比較したところ、いずれも明らかにビタミンCリン酸マグネシウム塩の数十から数百倍のメラニン生成抑制機能を有することが分かった。例えば、遊離のマスリン酸（精製マスリン酸1）では、ビタミンCリン酸マグネシウムの添加濃度 450 ppm の場合と比較すると、同程度の白色化度を示す添加濃度は 4 ppm であることから、遊離のマスリン酸（精製マスリン酸1）はビタミンCリン酸マグネシウムの約 110 倍のメラニン生成抑制機能を有することが分かった。同様に添加濃度 4

50 ppmのビタミンCリン酸マグネシウムを基準とすると、マスリン酸の塩（精製マスリン酸2）では約110倍、エリトロジオールでは約20倍、ウルソール酸では約110倍、ウバオールでは約40倍、ベツリン酸では約40倍、ベツリンでは約20倍、マスリン酸エチルエステルでは約110倍、アセチル化マスリン酸では約75倍、トリエチルシリル化マスリン酸では約40倍、ステアロイル化マスリン酸エチルでは約75倍、アセチル化エリトロジオールでは約20倍、ウルソール酸エチルエステルでは約110倍、アセチル化ウバオールでは約20倍、ベツリン酸エチルでは約20倍、アセチル化ベツリンでは約10倍のメラニン生成抑制効果を有することが分かった。

同様に表1から、従来から広く用いられていたコウジ酸と比較しても、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体のメラニン生成抑制効果は優れていた。

以上より、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体が、既存の動植物用メラニン生成抑制剤として広く用いられているビタミンCリン酸マグネシウムの数十から数百倍という驚異的なメラニン生成抑制効果を有することが分かった。これにより、これまでに無い程の非常に優れた動植物用メラニン生成抑制剤を提供することができることが明らかになった。

#### 【0121】

##### 実施例2

魚粉60質量%、大豆粕10質量%、デキストリン9.9質量%、コーンスターチ3.5質量%、ミネラル混合物4.5質量%、ミネラル混合物2質量%、をミキサーでよく混合し、基本飼料粉末を作成した。さらに、これに対し、マスリン酸0.1質量%、魚油7質量%、大豆油3質量%を順次加え、さらに適量の水で練り合わせ、ペレット状に整形した後、低温条件下で吸引乾燥を行った。

#### 【0122】

表2に、飼料の製造例を示す。なお、表2の飼料は実施例2と同様の方法により作製したが、コウジ酸、マスリン酸、ウルソール酸、ビタミンE、ビタミンC、アスタキサンチンの添加量については表2記載の含量に変更し、添加量の違い

については、デキストリンの添加量を変更することで全体量が100質量%となるように調製した。

### 【0123】

【表2】

飼料名	比較品 A	比較品 B	比較品 C	本発明品 A	本発明品 B
基礎飼料	基礎飼料粉末	基礎飼料粉末	基礎飼料粉末	基礎飼料粉末	基礎飼料粉末
コウジ酸 (%)	—	0.1	0.001	—	—
マスリン酸 (%)	—	—	—	0.1	0.001
ウルソール酸 (%)	—	—	—	—	—
ビタミン E	—	—	—	—	—
ビタミン C	—	—	—	—	—
アスタキサンチン	—	—	—	—	—

本発明品 C	比較品 D	比較品 E	本発明品 D	比較品 F	比較品 G	本発明品 E
基礎飼料粉末	基礎飼料粉末	基礎飼料粉末	基礎飼料粉末	基礎飼料粉末	基礎飼料粉末	基礎飼料粉末
—	—	0.1	—	—	0.1	—
—	—	—	0.01	—	—	0.01
0.1	—	—	—	—	—	—
—	0.05	0.05	0.05	—	—	—
—	0.1	0.1	0.1	—	—	—
—	—	—	—	0.05	0.05	0.05

### 【0124】

#### 実施例 3

次に、マダイの飼育試験を以下の通り行った。平均魚体重220gのマダイ240尾を無作為に20尾ずつに分け、それぞれを試験区とした。各試験区のマダイはそれぞれ、500リットルの黒色パンライト水槽に収容し、それを野外に設置した。それぞれの水槽は日差しが直接照射されないように遮光幕でカバーし、各水槽を試験区1～12とした。なお、各水槽には均等に太陽光が当たるように、日照時間中は構造物の陰にならないように設置した。1～12の各試験区のマダイは、1日4%（魚体重あたり）の投与量を目安に表3記載の各飼料を2ヶ月間投与した。投与期間終了後、試験区1～12のマダイはすべて、体表部の明るさとして、明るさの指標であるL値を色差計（MINOLTA社 SPECTROPHOTOMETER CM-508d）で測定、平均値を算出した。L値の測定は尾柄部中央と鰓蓋の突端を結んだ延長線と、側線にはさまれた部分のうち、腹鰭と肛門から等しい距離にある場所を測定地点とし、測定を行った。さらに、

試験区1～9のマダイについては、L値測定地点を中心に、体表に沿った厚さ1mmの凍結切片を3層切り出し、解凍後、ほぼ透明になったそれら試料の上に透明方眼を載せて、1平方センチメートルに出現する黒い筋の全長を測定した。黒い筋は樹枝状を呈しており、すべての部分の長さを測定した後、合計した。また、試験区10～12のマダイについては明るさの指標としてL値を測定するとともに、赤みの指標であるa値を同一の場所において測定した。結果を表3に示す。

【0125】

【表3】

試験区	1	2	3	4	5
投与飼料	比較品A	比較品B	比較品C	本発明品A	本発明品B
体色 (L 値)	51.8	55.9	50.9	68.7	66.9
体色 (a 値)	—	—	—	—	—
肉中黒い筋	60.5	42.2	59.1	37.2	41.1

6	7	8	9	10	11	12
本発明品C	比較品D	比較品E	本発明品D	比較品F	比較品G	本発明品E
65.1	53.1	58.8	78.3	50.4	55.1	63.2
—	—	—	—	7.2	8.8	9.4
41.8	58.8	38.6	17.2	—	—	—

【0126】

表3から明らかなとおり、試験区4は試験区1と比較して明らかにL値が高い値を示しており、マスリン酸の添加によって、体色の黒変が抑制された。また、試験区4は黒変抑制効果が知られているコウジ酸を投与した試験区2に対し、同じ他投与量でより高い効果を示している。さらに、試験区3において、コウジ酸0.001%を投与した場合、体色の黒変はまったく抑制されていないが、試験区5においてマスリン酸は同じ投与量でも高い効果が認められた。また、試験区6においてウルソール酸を用いた場合、試験区2におけるコウジ酸使用時よりも強く黒変を抑制した。さらに、抗酸化剤として知られているビタミンCおよびEを同時に投与した場合、試験区7から明らかなように若干の黒変抑制が認められた。一方、試験区8から明らかなように、これをコウジ酸と併用することによって相乗的な黒変抑制効果が認められたが、試験区9からわかるように、マスリン酸との併用によって、さらに著しい相乗的な黒変抑制効果が認められた。

肉中の黒い筋について、試験区 1～3 から明らかなように、コウジ酸の投与によって抑制されるが、コウジ酸の効果は 0.001% の添加量においては認められなかった。一方、試験区 4、5 より明らかなように、マスリン酸の投与によって肉中の黒い筋の量は激減し、その効果は 0.001% の添加量においても認められた。また、試験区 6 で示されたように、ウルソール酸を使用してもマスリン酸と同様の効果が得られた。さらに、試験区 7～9 から明らかなとおり、抗酸化剤との併用によってその効果は著しく高まり、マスリン酸添加飼料はコウジ酸使用時に比較して高い効果を示した。

また、色揚げ剤として知られている、アスタキサンチンを投与すると、試験区 10 に示したとおり、マダイの体色は赤みを帯びた。これら効果は試験区 11 からわかるように黒変抑制効果のあるコウジ酸の併用によって高まるが、試験区 12 に示したとおり、マスリン酸との併用によって顕著に赤みが強くなった。

#### 【0127】

##### <飼料製造例>

表 4 の添加割合となるように添加物を加えたエビ飼育用飼料を作成した。F～H について、基本飼料は市販飼料を用いた。市販飼料は魚粉、大豆粕、魚油、植物油脂等を主成分とし、ビタミン類およびミネラル類が必要十分量含まれる、一般クルマエビ養殖用固形飼料（ペレット）を用いた。なお、すべての飼料は一度粉碎し、魚油を 1% 混合、さらに、適量の水で練り合わせ、ペレット状に成形した後、低温条件下で吸引乾燥を行い、これを投与飼料とした。表 4 記載のマスリン酸はこれらを練り合わせるときに適時混合した。

#### 【0128】

【表 4】

	本発明品 F	比較品 H
基本飼料	クルマエビ用配合飼料	クルマエビ用配合飼料
マスリン酸	0.05%	—

#### 【0129】

##### 実施例 4

##### <処理液製造例>

処理液を作成した。処理液はその基本組成を炭酸水素ナトリウム 3 g、食塩 45 g をイオン交換水 1 リットルに溶解したものとした。それら基本組成にマスリン酸を 0.01 質量% 添加した。また、マスリン酸は 1 % となるように酢酸エチルに溶解し、これをイオン交換水で希釈混合した。

### 【0130】

さらに、評価を行うために処理液を作製した。処理液は実施例 4 同様に作製したが、クエン酸、クエン酸ナトリウム、コウジ酸、マスリン酸については表 5 記載の通りとした。

### 【0131】

【表 5】

処理液名	比較品 I	比較品 J	比較品 K	比較品 L	本発明品 G	本発明品 H
クエン酸	—	0.06%	0.06%	0.06%	0.06%	0.06%
クエン酸 ナトリウム	—	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%
コウジ酸	—	—	0.01%	0.001%	—	—
マスリン酸	—	—	—	—	0.01%	0.001%

### 【0132】

#### 実施例 5

次に、クルマエビの飼育試験および、飼育後のエビの保存試験を行った。平均体重が 21.7 g のクルマエビ 120 尾を 20 尾ずつ 6 試験区に分け、表 6 の通りに比較品 H および本発明品 F の飼料で 2 ヶ月間飼育を行った。飼料は一日あたり体重の 3 % 程度を目安に投与した。飼育終了後、すべてのクルマエビを -80℃ で凍結保存し、これを浸漬処理後、保存試験に供試した。保存試験には各試験区から任意に選んだ個体 5 尾ずつを供試した。

### 【0133】

#### <浸漬処理>

エビはすべて一度冷凍した後、解凍しこれを処理液に 1 時間浸漬し、水を切った後に発泡スチロールトレーに収容、ラッピングを行い 4℃ で 5 日間保存試験を行った。各試験区から 5 尾ずつのエビを保存試験に供試した。評価方法は保存試験を行ったサンプルのうち、最も黒変が進行しているものを 5、冷凍状態で保存

してあったものを1とし、すべてのエビについて5～1の点数をつけ、各試験区毎に平均値を算出した。

【0134】

【表6】

試験区	13	14	15	16	17	18	19
投与飼料	比較品H	本発明品F	比較品H	比較品H	比較品H	比較品H	比較品H
処理液	比較品I	比較品I	比較品J	比較品K	比較品L	本発明品G	本発明品H
平均値	4.8	2	4.4	3.6	4	1.6	2.4

【0135】

表6より明らかなように、試験区14は試験区13と比較してあきらかに保存期間中の黒変が抑制されており、投与飼料中にマスリン酸を添加することによって黒変が抑制されることが明らかとなった。また、試験区15で示されたように、有機酸で処理することによって、若干黒変が抑制されるが、その効果は高いものではなかった。さらに、試験区16の結果からわかるように、コウジ酸の処理によって、相加的な効果が認められたが、試験区17で示されたコウジ酸の添加量では十分な効果は発揮されなかった。一方、試験区18の結果から明らかなようにマスリン酸で処理を行うことによって黒変は著しく抑制されており、その効果は試験区19の結果から明らかなように0.001%の添加量においても明確に発揮された。

【0136】

#### 実施例6

さらに、植物であるリンゴについても本発明の効果を調べた。以下にその実施例を示す。

リンゴはすべて同じ産地、同じ収穫日であることを確認の上、実験に使用した。直径、約11cmのリンゴを5個用意し、外皮を取り除いた後、それぞれのリンゴから厚さ0.5mm、大きさは1cm角に果肉部を6切片ずつ切り出した。なお、切り出した果肉部は外皮から1.5cm以内の部分を使用した。

全てのサンプルは切り出した後、実験に供試するまで0.5%食塩水中に保存した。切り出したサンプルはそれぞれ、6切片のうち5切片について浸漬処理を



行った。処理液は表 5 記載のものを使用した。残り 1 切片は評価対照として、評価時まで 4℃条件下で 0.5%食塩水中に保存した。浸漬処理は、食塩水をよく水洗し、表 7 記載の各処理液に 15 分浸漬し、水を切った後に 25℃で 2 時間放置し、褐変の程度を評価した。評価方法は、放置したサンプルのうち、最も褐変が進行しているものを 5、浸漬処理を行わず、食塩水中に保存したサンプルを 1 とし、全ての切片について 5～1 の点数をつけ、用意した 5 個のリンゴ全てについて試験を行った後、各浸漬処理毎に平均値を算出した。

## 【0137】

【表 7】

試験区	20	21	22	23	24
処理液	比較品 J	比較品 K	比較品 L	本発明品 G	本発明品 H
平均	5	4.2	4.4	1.4	2.2

## 【0138】

表 7 より明らかなように、試験区 20 は試験区 21 と比較して若干褐変が抑制されており、コウジ酸の処理効果が認められるが、試験区 22 で行った添加量においては、ほとんどその効果が認められないことがわかる。一方、試験区 23、24 はそれら比較例と比べて著しく褐変が抑制されており、マスリン酸の添加によって効果的に褐変が抑制されていることが明らかとなった。また、その効果は 0.001%でも顕著に認められるものであった。

## 【0139】

## 実施例 7

## ＜肥料の製造例＞

本発明品 I (油粕固形肥料)

菜種油粕 690 g

骨粉 300 g

マスリン酸 10 g

水 適量

上記原料をよく混合し、水を加えて固めのペースト状とし、日陰に安置した。

1 ヶ月間発酵させ、油粕固形肥料を得た。

本発明品 J (油粕固形肥料)

オリーブ油粕 5 9 0 g

骨粉 4 0 0 g

ウルソール酸 1 0 g

水 適量

上記原料をよく混合し、水を加えて固めのペースト状とし、日陰に安置した。

1 ヶ月間発酵させ、油粕固形肥料を得た。

#### 【0 1 4 0】

##### <比較品の作製>

比較品 M

本発明品 I と同様の方法を用いて比較品 M の肥料を作成した。なお、比較品 M に  
はマスリン酸ではなくコウジ酸 1 0 g を用いた。

#### 【0 1 4 1】

##### 実施例 8

生育中の植物における本発明の効果についても調べた。以下にその実験例を示す。

容量約 2 0 リットルのプランター 1 5 ケを用いナスの栽培試験を行った。プランター 1 ケに 1 本ずつのナスが生育するように苗を栽培し、栽培開始から 4 0 日間は全てのプランターについて日照条件、肥料、給水等、同条件で栽培を行った。葉枚数、茎丈から、ほぼ同様の生育状態の苗を 6 本選択し、さらにそれらを 3 本ずつ 2 つの区に分けた。その後、各区の苗には比較品 M および本発明品 I の肥料による追肥を行った。なお、追肥は 2 週間に 1 度とし、プランターの土壌の表面に、1 5 g の肥料を撒きそれらの上から水を十分量与えるものとした。栽培開始から 6 5 ~ 7 5 日目の間に収穫されたナスのうち、表面に傷や虫食いのないナスを苗 1 本あたりにつき 3 本選択し、褐変の観察に用いた。

褐変の観察は次のように行った。すなわち、観察に用いるナスは縦に 2 つに分割できるように切り分け、一片を 0 . 5 % 食塩水に浸漬した。もう片方を 2 5 ℃ の恒温層内で 1 時間放置した。全てのナスについて同様の処理を行い、1 時間の放置

後、食塩水に浸漬してある一片と比較を行い、褐変の進行度合いを観察した。観察の結果、明らかに全体にわたり褐変がおきているものを3、部分的に褐変がおきているものを2、褐変がそれほど顕著でないものを1、まったく褐変がおきていないものを0とし、全てのナスについて点数による評価を行った後、それぞれ区毎の平均値を算出した。

【0142】

【表8】

試験区	25	26
追肥肥料	比較品M	本発明品I
観察平均値	2.9	1.9

【0143】

試験区25は試験区26の結果と比べて明らかなように、褐変観察における平均値が低く、本発明の五環性トリテルペン類を肥料として用いることで栽培されたナスは通常のものに比べて褐変を起こしにくいことが明らかとなった。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 本発明は、優れたメラニン生成抑制効果を有する、動植物用メラニン生成抑制剤を提供することを課題とし、またこれらの原料および使用方法を提供することを課題とする。

【手段】 五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上を有効成分とする動植物用メラニン生成抑制剤に関し、またその原料に関する。また、五環性トリテルペン類およびそれらの生理的に許容される塩、またはそれらの誘導体からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上と、酸化防止剤、有機酸および同塩類、リン酸および同塩類からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上とを含有する黒変・褐変防止組成物に関する。

【選択図】 な し。

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2 0 0 1 - 3 0 4 7 0 8
受付番号	5 0 1 0 1 4 4 7 3 7 1
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0 0 9 4
作成日	平成 1 3 年 1 0 月 2 日

< 認定情報・付加情報 >

【提出日】	平成13年 9月28日
-------	-------------

次頁無

【書類名】 出願人名義変更届（一般承継）

【あて先】 特許庁長官殿

【事件の表示】

【出願番号】 特願2001-304708

【承継人】

【識別番号】 302057203

【氏名又は名称】 日清オイリオ株式会社

【代表者】 秋谷 浄恵

【提出物件の目録】

【物件名】 承継証明書 1

【援用の表示】 平成 5 年特許願第 0 6 3 1 8 5 号

【物件名】 商業登記簿謄本 1

【援用の表示】 平成 5 年特許願第 0 6 3 1 8 5 号

【プルーフの要否】 要

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2 0 0 1 - 3 0 4 7 0 8
受付番号	5 0 2 0 1 5 4 7 1 6 1
書類名	出願人名義変更届 (一般承継)
担当官	藤居 建次 1 4 0 9
作成日	平成 1 4 年 1 1 月 2 7 日

< 認定情報・付加情報 >

【提出日】 平成14年10月15日

次頁無

特願 2001-304708

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000227009]

1. 変更年月日 1990年 8月16日  
[変更理由] 新規登録  
住 所 東京都中央区新川1丁目23番1号  
氏 名 日清製油株式会社
2. 変更年月日 2002年10月 1日  
[変更理由] 名称変更  
住所変更  
住 所 東京都中央区新川1丁目23番1号  
氏 名 日清オイリオグループ株式会社



特願 2 0 0 1 - 3 0 4 7 0 8

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 3 0 2 0 5 7 2 0 3 ]

1. 変更年月日

2 0 0 2 年 1 0 月 1 日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都中央区新川一丁目 2 3 番 1 号

氏 名

日清オイリオ株式会社